

Synthese und Charakterisierung molekular verbrückter Edelmetall-Nanopartikel für die oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
– Dr. rer. nat. –

vorgelegt von

Florian Selbach

geboren in Bochum

Fakultät für Chemie
der
Universität Duisburg-Essen
2017

*Das Leben ist wie Fahrrad fahren,
um die Balance zu halten musst du in Bewegung bleiben.*
Albert Einstein

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von April 2013 bis Juni 2017 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Sebastian Schlücker am Institut für Physikalische Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Tag der Disputation: 12.09.2017

Gutachter: Prof. Dr. Sebastian Schlücker
Jun.-Prof. Dr. André H. Gröschel
Vorsitzender: Prof. Dr. Georg Jansen

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Synthese und Charakterisierung molekular verbrückter Edelmetall-Nanopartikel für die oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie“

selbst verfasst und keine, außer den angegebenen, Hilfsmitteln und Quellen benutzt habe, und dass die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht wurde.

Essen, im Juni 2017

Florian Selbach

Kurzzusammenfassung

Dimere aus Edelmetall-Nanopartikeln stellen das einfachste System dar, bei dem eine plasmonische Kopplung zu beobachten ist. Bei resonanter Lichtanregung kommt es in der Schnittstelle zwischen den beiden Nanopartikeln zu extremen Verstärkungen des elektromagnetischen Feldes. Es ist möglich, dieses in der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie zu nutzen.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, gezielt molekular verbrückte, ideale Gold-Nanopartikel-Dimere mit homogenen Streueigenschaften herzustellen. Hierzu wurden 50 nm ideal sphärische Gold-Nanopartikel synthetisiert, welche durch eine Doppelschicht aus CTAB stabilisiert sind. Durch die Entwicklung einer neuen Methode ist es nun möglich, die stabile CTAB-Schicht mittels organischem Lösungsmittel (Ethanol und Acetonitril) und NaBr von der Nanopartikel-Oberfläche zu entfernen, um diese über eine schrittweise Substrat-basierte Assemblierungsmethode mit Alkyldithiole zu Dimeren zu koppeln. Nach diesem Verfahren konnten ideale Dimere mit einer Ausbeute von bis zu 89 % hergestellt werden. Diese wurden mittels der Elektronenmikroskopie sowie Einzelpartikel-Streuspektroskopie charakterisiert und mit nicht-idealen Dimeren verglichen. Die Homogenität der idealen Dimere war über polarisationsaufgelöste Streuspektren nachweisbar. Dies ist für die Quantifizierbarkeit in SERS-Anwendungen nötig und ermöglicht den direkten Vergleich zu theoretischen Simulationen. Weitergehend konnte die Einzelpartikel-SERS-Sensitivität für Dimere, mit einer Monolage aus 1,8-Octandithiol und Thiophenol, durch polarisationsaufgelöste SERS-Messungen demonstriert werden.

Neben den Alkylthiolen wurden auch andere Brückenmoleküle, wie Aryldithiole und Dendrimere, untersucht. Beide Moleküle besitzen das Potential, nicht nur zwei AuNP miteinander zu einem Dimer zu verbinden, sondern können auch als Raman-aktives Molekül im *hot spot* nachgewiesen werden. Dies konnte für 1,4-Benzoldimethylthiol demonstriert werden.

Je nach Anwendung stehen unterschiedliche Moleküle zur Verbrückung von Edelmetall-Nanopartikeln bereit. Es zeigte sich, dass sich Alkyldithiole, aufgrund ihrer Eigenschaften, am besten zur Assemblierung eignen. In Kombination mit Raman-aktiven Arylthiolen ist die Anwendung in der SERS-Spektroskopie möglich.

Summary

Dimers of noble metal nanoparticles are the simplest system in which plasmonic coupling is observed. By resonant light excitation extreme enhancements of the electromagnetic field occur in the gap between the two nanoparticles. This high enhancement can be exploited in surface-enhanced Raman spectroscopy.

Molecularly bridged ideal gold nanoparticle dimers with homogeneous scattering properties were produced. For this purpose 50 nm ideal spherical CTAB capped gold nanoparticles were synthesized. A new method has been developed for efficient removal of the CTAB bilayer from the NP surface by using a combination of an organic solvent (ethanol and acetonitril) and salt (NaBr), in order to couple them with alkyldithiols to dimers in an step-wise substrate-based assembly method. According to this method, ideal dimers are produced with a yield of up to 89 %. These dimers were characterized by electron microscopy as well as single particle scattering spectroscopy and compared with non-ideal shaped AuNP dimers. The homogeneity of the ideal dimers was demonstrated by polarization-resolved scattering measurements, which are necessary for the quantifiability in SERS applications and allows a comparison to theoretical simulations. Further, the single particle SERS sensitivity of dimers with a monolayer of 1,8-octanedithiol and thiophenol were shown by polarization-resolved SERS measurements.

In addition to the alkylthiols, other bridge molecules such as arylthiols and dendrimers were also studied. Both molecules show the potential to be applied as a molecular bridge and also as a Raman-active molecule due to their high Raman cross section, which can be probed in the *hot spot*. This was demonstrated for 1,4-benzenedimethanethiol.

Depending on the application different types of molecules are available for bridging noble metal nanoparticles. It has been proven that alkyldithiols show the best result in efficient assembling of ideal and non ideal AuNP to dimers. In combination with Raman-active arylthiols, the application is possible in SERS spectroscopy and microscopy.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Theoretische Grundlagen	3
2.1	Lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz	3
2.2	Nanopartikel-Dimere	4
2.2.1	Plasmonhybridisierungsmodell	4
2.2.2	Herstellung von plasmonisch-aktiven Dimeren	5
2.2.3	Plasmon-Spektroskopie	7
2.2.4	Oberflächenverstärkte Raman-Streuspektroskopie	8
2.2.5	SERS-aktive Dimere	11
3	Material und Methoden	13
3.1	UV-Vis-Extinktions-Spektroskopie	13
3.2	Transmissionselektronenmikroskopie	13
3.3	Rasterelektronenmikroskopie	13
3.4	Dunkelfeld-Aufbau zur Einzelpartikeldetektion	13
3.5	Chemikalien und Lösungsmittel	16
3.6	Nanopartikel-Synthesen	16
3.6.1	Synthese von Silber-Nanopartikeln	16
3.6.2	Synthese von Citrat-stabilisierten AuNP	17
3.7	Dimer-Assemblierung von Citrat-stabilisierten AuNP	18
3.7.1	Modifizierte Methode zur Dimer-Assemblierung von Citrat-stabilisierten AuNP ohne Desilanisierung	19
3.7.2	Synthese von super-sphärischen Gold-Nanopartikeln	20
3.8	Dimer-Assemblierung von CTAB-stabilisierten ssAuNP	21
4	Ergebnisse und Diskussion	22
4.1	Synthese eines bifunktionellen Brückenmoleküls	22
4.1.1	Einleitung und Aufgabenstellung	22
4.1.2	Synthese von bisdendritischen Brückenmolekülen	22
4.1.3	Rhodamin-Malonat-Kopplung	25
4.1.4	Thiol-funktionalisiertes Brückenmolekül	27
4.1.5	Synthese von Rhodamin B Isotopologen	28
4.1.6	Schwingungsspektroskopische Charakterisierung der Amino-Rhodamin B Isotopologen	31
4.1.7	Zusammenfassung und Ausblick	33
4.2	Herstellung von SERS-aktiven AuNP-Dimeren	34
4.2.1	Einleitung und Aufgabenstellung	34
4.2.2	SAM-Ausbildung von Aryldithiolen auf AuNP	34
4.2.3	Assemblierung und Charakterisierung von BDMT-verbrückten AuNP-Dimeren	36
4.2.4	Zusammenfassung	38
4.3	Präzisionsplasmonik mit idealen Dimeren	40

4.3.1	Einleitung und Aufgabenstellung	40
4.3.2	Synthese von super-sphärischen Gold-Nanopartikeln	40
4.3.3	Assemblierung von ssAuNP	48
4.3.4	Ligandenaustausch von CTAB- zu Citrat-stabilisierten ssAuNP	53
4.3.5	Destabilisierung der CTAB-Doppelschicht	58
4.3.6	Einfluss der NaBr-Konzentration	62
4.3.7	Abstandskontrolle zwischen den ssAuNP im Dimer	64
4.3.8	Einzelpartikelmessungen	65
4.3.9	Ideale Dimere	65
4.3.10	Nicht-ideale Dimere	68
4.3.11	Polarisationsaufgelöste Streuspektren	71
4.3.12	Verschiebung der LDP-Kopplungsbande	73
4.3.13	SERS-aktive ideale Dimere	76
4.3.14	Zusammenfassung	78
5	Zusammenfassung	80
6	Synthesen	83
7	Literaturverzeichnis	111
8	Anhang	117
8.1	Danksagung	119
8.2	Lebenslauf	120

Abkürzungsverzeichnis

$\tilde{\alpha}$	Polarisierbarkeit
A	Fläche
AA	Ascorbinsäure
Abb.	Abbildung
AC	Achromat Linse
AgNP	Silber-Nanopartikel
AuNP	Gold-Nanopartikel
APTMS	(3-Aminopropyl)trimethoxysilan
BD	Bisdendron
BDT	1,4-Benzylidithiol
BDMT	1,4-Benzylidimethylthiol
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BPDT	Biphenyl-4,4'-dithiol
C2	1,2-Ethandithiol
C4	1,4-Butandithiol
C6	1,6-Hexandithiol
C8	1,8-Octandithiol
C10	1,10-Decandithiol
C16	1,16-Hexadecandithiol
Citrat	<i>tri</i> -Natriumcitrat
CCD	<i>Charge-coupled device</i>
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
CTAC	Cetyltrimethylammoniumchlorid
Cmos	<i>Complementary metal-oxide-semiconductor</i>
cm	Zentimeter
CMC	Mizellbildungskonzentration (<i>critical micelle concentration</i>)
CS	Kern-Satelliten-Strukturen (<i>core-satellite structures</i>)
D	Durchmesser
DA	Diodenarray-Detektor
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DF	Dunkelfeld
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DIPEA	Diisopropylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
ϵ	Dielektrizitätskonstante
\vec{E}	Elektrische Feldstärke
E	Energie
EtOAc	Ethylacetat
EF	Verstärkungsfaktor (<i>enhancement factor</i>)
EM	Elektromagnetisch
EtOH	Ethanol

FDTD	<i>Finite-difference time-domain</i>
FmocCl	Fluorenylmethyloxycarbonylchlorid
g	Erdbeschleunigung
G	SERS-Verstärkungsfaktor
h	Stunde
I	Intensität
I	Irisblende
ITC	Isothiocyanat
<i>i</i> PrOH	<i>iso</i> -Propanol
k_B	Boltzmann-Konstante
λ	Wellenlänge
LDP	Longitudinale bindende Dipol-Dipol Plasmon-Kopplungsbande
LOP	Longitudinale bindende Oktupol-Oktupol Plasmon-Kopplungsbande
LQP	Longitudinale bindende Quadrupol-Quadrupol Plasmon-Kopplungsbande
LSPR	Lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (<i>localized surface plasmon resonance</i>)
$\vec{\mu}$	Oszillierendes Dipolmoment
μL	Mikroliter
mM	Millimolar
μM	Mikromolar
μW	Mikrowatt
M	Molar
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
min	Minuten
mL	Milliliter
M Ω	Megasiemens
MeCN	Acetonitril
MUA	Mercaptoundecansäure (<i>mercaptoundecanoic acid</i>)
MUTMAB	(11-Mercaptoundecyl)- <i>N,N,N</i> -trimethylammoniumbromid
MS	Massenspektroskopie
NA	Numerische Apertur
ND	Neutraldichtefilter
NF	Kerbfilter
nm	Nanometer
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NP	Edelmetall-Nanopartikel
NS	Nanostruktur
ω	Schwingungsfrequenz
ψ	Wellenfunktion
P	Leistung
pM	Pikomolar
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
PSS	Polystyrolsulfonat
q	Normalkoordinate
ρ	Depolarisierbarkeitsverhältnis

r	Radius
R	Rundheit
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RB	Rhodamin B
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>revolutions per minute</i>)
s	Sekunden
SAM	Selbstorganisierende Monolage (<i>self-assembled monolayer</i>)
SERS	Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (<i>surface-enhanced Raman scattering</i>)
SPC	Plasmonenkopplungsbande (<i>surface plasmon coupling</i>)
ssAuNP	Super-sphärische Gold-Nanopartikel
t	Zeit
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TDP	Transversale antibindene Dipol-Dipol Plasmon-Kopplungsbande
TFA	Tetrafluoressigsäure
TL	Tubuslinse
TP	Thiophenol
UV-Vis	Ultraviolett-sichtbar
V	Volumen
vol-%	Volumenprozent
W	Watt
°C	Grad Celsius

1 Einleitung

Die Nanotechnologie stellt in den letzten Jahrzehnten einen neuen und wichtigen interdisziplinären Forschungsschwerpunkt dar. Nanoprodukte werden in vielen Bereichen wie der Optik, Katalyse, Mikroelektronik, Biomedizin und Energietechnik erforscht bzw. bereits genutzt. ^[1–5] Aufgrund der veränderten Eigenschaften von Nanomaterialien, im Vergleich zum Volumenmaterialien, ergeben sich eine Vielzahl von neuen Anwendungsmöglichkeiten.

Bereits Mitte des 19. Jahrhunderts faszinierten M. Faraday die optischen Eigenschaften von kolloidalem Gold. ^[6] Seine Beobachtungen waren der Grundstein für ein neues Forschungsgebiet, der Plasmonik. ^[7] Diese beschäftigt sich mit optischen Phänomenen, welche durch die Wechselwirkung von Licht mit metallischen Nanostrukturen hervorgerufen werden. Die Lichteinstrahlung auf Edelmetall-Nanopartikel (NP) führt zur Anregung einer kollektiven Schwingung des Elektronengases im Metall, welche als lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR, *localized surface plasmon resonance*) bezeichnet wird. Durch die Veränderung der Form, Größe, Zusammensetzung und Struktur des NP kann die LSPR beeinflusst werden. ^[8] Ist das eingestrahlte Licht resonant zur LSPR, können Erhöhungen des elektrischen Feldes (Nahfelderhöhung) um den NP beobachtet werden. Besonders interessant sind Assemblate aus zwei oder mehreren NP wie zum Beispiel Dimere, da an der Kontaktstelle zwischen den NP extreme elektrische Felderhöhungen (*hot spots*) auftreten, welche um mehrere Ordnungen größer sind als bei Monomeren NP. In Kombination mit Techniken der Molekülspektroskopie ergeben sich hierdurch spannende Möglichkeiten für hochempfindliche optische Anwendungen. Hierzu zählt die Spektroskopie der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (SERS, *surface-enhanced Raman scattering*). Bei dieser Methode wird das Raman-Signal von Molekülen, welche sich beispielsweise in der Lücke zwischen zwei NP befinden, durch die dort auftretende starke Felderhöhung (10^6 bis 10^8 des Raman-Signals) verstärkt. ^[9,10] Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, durch die hohe Verstärkung einzelne Moleküle nachzuweisen, wenn sich diese in einem *hot spot* befinden. Die Stärke der Kopplung in einem Dimer und die daraus resultierende elektromagnetische Verstärkung ist dabei sensitiv von dem Abstand der beiden NP abhängig. Wird die Distanz beispielsweise von 10 nm auf 2 nm verringert, nimmt die Verstärkung um 10^4 zu. ^[11] Eine unbegrenzte Verstärkung durch Verringerung des Abstandes ist jedoch nicht möglich, da es bei sub-Nanometer-Abständen zum Auftreten von Quantenphänomenen kommt. ^[12,13] Um somit Dimere reproduzierbar und quantifizierbar für die SERS-Einzelmolekül-Spektroskopie, bzw. für weitere SERS-Anwendungen zu verwenden, zum Beispiel als SERS-Marker in der Biomedizin, ist es nötig, den Abstand präzise zu kontrollieren. ^[14–17]

Die Abstandskontrolle kann zum Beispiel durch Moleküle erfolgen. Im Rahmen dieser Arbeit sollen molekular-verbrückte Edelmetall-Nanopartikel-Dimere hergestellt und charakterisiert werden, um diese in der SERS-Spektroskopie zu nutzen.

Dabei spielt die Herstellung von SERS-aktiven Dimeren als Marker in der Nanodiagnostik, sowie zur Einzelmolekül-Detektion eine wichtige Rolle. Hierzu wurde im ersten Teil (Kapitel 4.1) ein bisdendritisches Brückenmolekül designt, an das ein Raman-Farbstoff (Rhodamin B) gebunden werden kann. Ausgehend von Malonsäure wurde durch Reaktion mit Ethylendiamin und Methylacrylat ein Bisdendrimer synthetisiert. Das Malonsäuregrundgerüst kann durch einfache Reaktionen mit einem Raman-aktiven Farbstoff modifiziert werden, damit sich später im Dimer

direkt im *hot spot* das kovalent gebundene Raman-Farbstoffmolekül befindet. Das Brückenmolekül wurde ohne den Raman-Farbstoff synthetisiert und die Kopplung zu Silber-NP (AgNP) untersucht. Wie bereits erläutert, ermöglicht SERS sensitiv und selektiv einzelne im *hot spot* immobilisierte Moleküle durch die extreme Verstärkung des Raman-Signals zu detektieren. Durch die Einzelmolekül-Spektroskopie lassen sich Aussagen über die lokale Umgebung um das Molekül, sowie molekulare Eigenschaften treffen, welche normalerweise im Ensemble gemittelt werden. Zum sicheren Einzelmolekül-Nachweis gilt hierbei der sogenannte Bi-Analyt-Ansatz mittels Isotopologen eines Raman-Farbstoffes. Somit unterscheiden sich beide Farbstoffe in ihren schwingungsspektroskopischen Eigenschaften, jedoch nicht in ihren chemischen.^[17,18] Hierzu wurden Isotopologen von Rhodamin B-Derivaten synthetisiert und charakterisiert.

Im Gegensatz zur Assemblierung von Dimeren im Kolloid bieten Oberflächen-basierte Methoden einen eleganten Weg, NP gezielt zu modifizieren. Durch elektrostatische Wechselwirkungen lassen sich Citrat-stabilisierte NP auf, mit Aminogruppen funktionalisierten, Glasoberflächen anbinden, die ungebundenen Aminogruppen entfernen und auf den NP eine Monolage aus Alkyldithiolen ausbilden.^[19,20] Auf diese können die zweiten NP binden und Dimere ausbilden. Da Alkylketten einen geringen Raman-Streuquerschnitt aufweisen, lassen sich diese Dimere nicht für SERS-Anwendungen nutzen. Im zweiten Teil (Kapitel 4.2) wurden geeignete Raman-aktive Aryldithiole gesucht, um Gold-NP-Dimere (AuNP-Dimere) auszubilden und diese elektronenmikroskopisch und schwingungsspektroskopisch untersucht.

Neben dem Abstand der NP in einem Dimer sind auch die Form und Geometrie der verwendeten NP von entscheidender Bedeutung für die Reproduzierbarkeit des LSPR und das SERS-Signals auf Einzelpartikelniveau. Bei den bisher in der Literatur bekannten Dimeren wurden multikristalline, nicht-ideal sphärische NP verwendet.^[21–23] Die unterschiedliche Oberflächenbeschaffenheit der einzelnen NP führt bei der Kopplung von zwei NP zu unterschiedlichen Plasmonenkopplungsbanden, sowie unterschiedlichen Verstärkungen im *hot spot* des Raman-Signals. In den letzten beiden Teilen dieser Arbeit wurden super-sphärische AuNP (ssAuNP) synthetisiert und eine neu entwickelte Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode zur Ausbildung von ssAuNP-Dimeren gezeigt. Die Dimere wurden im Elektronenmikroskop und auf Einzelpartikelniveau mittels polarisationsaufgelöster Dunkelfeld-Streuspektroskopie und SERS-Spektroskopie untersucht.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz

Edelmetall-Nanopartikel (NP) weisen bei der Wechselwirkung mit Licht eine Reihe von interessanten Eigenschaften auf. Die NP sind kleiner als die Wellenlänge des eingestrahnten Lichts und können somit von diesem annähernd komplett durchdrungen werden. Trifft, wie in Abb.1 dargestellt, elektromagnetische Strahlung (EM-Strahlung) (E_0) auf solch einen NP, fangen die Leitungselektronen im Partikel an, zu schwingen. Die Elektronen werden dabei relativ zu den ortsfesten, positiv geladen Atomrümpfen kollektiv ausgelegt. Stimmt die Frequenz der eingestrahnten EM-Strahlung mit der Eigenfrequenz der Elektronen überein, kommt es zu einer kollektiven kohärenten Oszillation der leitenden OberflächenElektronen, welche als lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR, *localized surface plasmon resonance*) bezeichnet wird. Das Quasi-Teilchen, welches der kollektiven Schwingung der Elektronen zugeordnet wird, wird als lokalisiertes Oberflächenplasmon bezeichnet. Der NP streut und absorbiert dabei das eingestrahlte Licht, welches der Plasmonenresonanz entspricht und der NP-Dispersion ihre Farbe verleiht. Die Streuung der EM-Strahlung kann im Falle von sphärischen NP über die Mie-Theorie berechnet werden.^[24] Größe, Material und geometrische Form der NP haben Auswirkungen auf die Änderung der Plasmonenresonanz.^[25] Die Größe der NP bestimmt das Verhältnis von Streuung zu Absorption. Große Partikel streuen das Licht effektiver, da die Streuintensität von der sechsten Potenz des Partikelradius ($I \sim r^6$) abhängt, wohingegen kleine Partikel dieses absorbieren. Eine Adsorption von Molekülen auf die Oberfläche der NP führt zu einer Veränderung der dielektrischen Umgebung auf die die LSPR sensitiv reagiert und zu einer Verschiebung der Plasmonenresonanz führt.

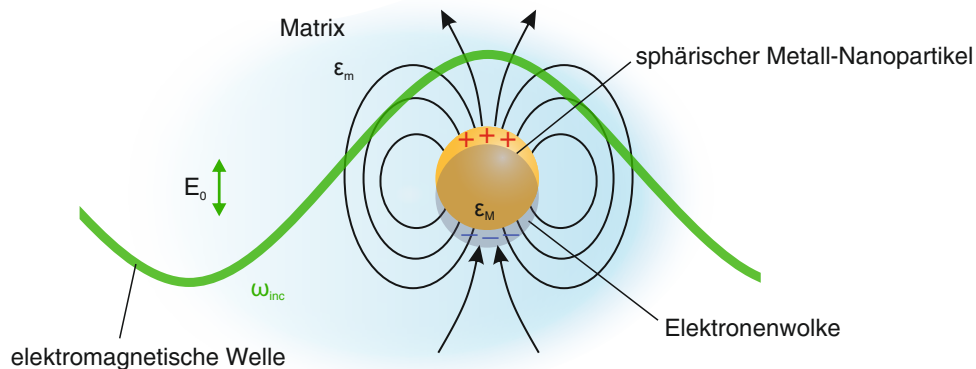


Abb. 1: Schematische Darstellung der lokalisierten Oberflächenplasmonenresonanz. Die elektromagnetische Strahlung (E_0) mit der Frequenz (ω_{inc}) regt die Leitungselektronen des NP zur Schwingung an, wodurch ein elektrisches Feld induziert wird.

Weitergehend ist die LSPR für die elektromagnetische Feldverstärkung verantwortlich, welche zur oberflächenverstärkten Raman-Streuung und weiteren oberflächenverstärkten spektroskopischen Prozessen führt. NP fungieren somit als Nanoantennen.

2.2 Nanopartikel-Dimere

Eine Möglichkeit, die Plasmonenfrequenz gezielt zu ändern, ist die Assemblierung von zwei NP zu einem Dimer, wodurch eine neue hybridisierte Plasmonenmode entsteht. Werden zwei sphärische NP in einen geringen Abstand zueinander gebracht, kommt es zur Kopplung der Plasmonen der beiden Partikel, welches zu einer starken Felderhöhung in der Schnittstelle zwischen den NP führt. Diese lokalen Nahfelderhöhungen sind deutlich größer als bei einzelnen sphärischen Monomeren-NP und werden als *hot spots* bezeichnet. Ein NP-Dimer aus zwei gleich großen NP stellt damit das einfachste niederdimensionalste, ideale System dar, bei dem die plasmonischen Eigenschaften gezielt eingestellt und theoretisch vorhersagt werden können.

2.2.1 Plasmonhybridisierungsmodell

Die Kopplung der Plasmonen der beiden NP in einem Dimer kann theoretisch sehr gut über das von Nordlander *et al.* eingeführte Plasmon-Hybridisierungsmodell erklärt werden. [26,27] Hierbei werden die Plasmonmoden einer komplexen Nanostruktur durch die Wechselwirkungen der Plasmonenresonanzen der einzelnen NP betrachtet. Die hybridisierte Plasmonenmode ergibt sich analog zur Molekülorbitaltheorie aus der Linearkombination der Wellenfunktion der einzelnen NP. Wird wie in Abb. 2 die Hybridisierung der Plasmonenmoden zweier NP (Ψ_1 und Ψ_2) betrachtet, so kommt es zu einer gleichphasigen ($\Psi_1 + \Psi_2$) und einer gegenphasigen Wechselwirkung ($\Psi_1 - \Psi_2$), sowie zur Bildung von bindenden und antibindenden Plasmonenmoden. Die gleichphasigen Wechselwirkungen werden als sogenannte helle (σ und π^*) und die gegenphasigen Wechselwirkungen als dunkle Plasmonenmoden (π und σ^*) bezeichnet. Im idealen Fall zweier gleichgroßer sphärischer NP sind nur die hellen Moden sichtbar.

Bei der Anregung des Dimers mit Licht einer Polarisation parallel zur Dimerachse ist nur die bindende longitudinale Plasmonmode (σ) sichtbar. Diese liegt rotverschoben von der Plasmonenmode der Monomeren-NP und fokussiert das elektrische Feld auf die Schnittstelle zwischen die beiden NP (*hot spot*). Hingegen ist bei einer Anregung senkrecht zur Dimerachse nur die transversale Mode (π^*) sichtbar. [28]

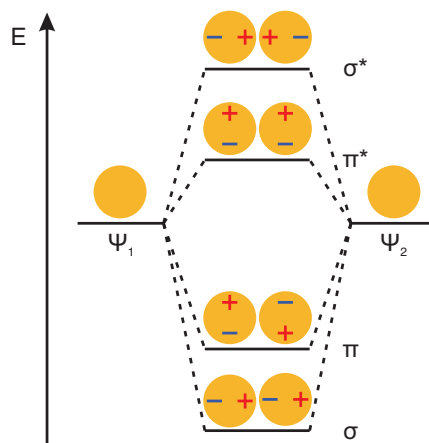


Abb. 2: Schematische Darstellung des Energiediagramms der Plasmonenhybridisierung in einem NP-Dimer. [26]

Je kleiner der Abstand der beiden NP zueinander wird, desto stärker wird die Wechselwirkung

der beiden Partikel. Dies führt zu einer größeren Aufspaltung der Plasmonmoden im Hybridisierungsmodell. Aus diesem Grund erscheint die longitudinale Plasmonenresonanz (σ) rotverschoben, je geringer der Abstand der NP wird (20 nm - 1 nm), bis es unterhalb von 1 nm zum Auftreten von Quanteneffekten kommt. Die Verschiebung reagiert sensitiv, dass eine Auflösung des Abstandes auf Å-Niveau möglich ist, so dass die Plasmonenkopplung in einem Dimer als Plasmonenlineal genutzt werden kann. [19,20,29] Die dabei zu beobachtenden Feldverstärkungen im *hot spot* sind so groß, dass es möglich ist, einzelne Moleküle über die SERS-Spektroskopie zu detektieren. [30,31]

2.2.2 Herstellung von plasmonisch-aktiven Dimeren

Aufgrund des hohen Interesses an der enormen elektrischen Felderhöhung in der Schnittstelle zwischen den NP in einem Dimer wurden in den letzten Jahrzehnten immer mehr Methoden entwickelt, um diese gezielt in Dispersion herzustellen. Monomere-NP liegen meist in kolloidaler Form vor und sind somit durch einfache Reaktionen zu modifizieren und zu Dimeren zu assemblieren. Edelmetall-NP besitzen, abhängig von deren Präparierungsmethode und den dabei verwendeten Stabilisatormolekülen, ein stark positives oder negatives Zetapotential. Durch Zugabe von Salz kann die Ladung neutralisiert werden, wodurch die Repulsion zwischen den NP abnimmt. Diese kommen dadurch in einen geringen Abstand zueinander und es kommt zur Bildung von Dimeren, Trimeren und größeren Clustern. Eine andere Möglichkeit besteht darin, NP mit entgegengesetzter Oberflächenladung zusammenzugeben, wodurch es ebenfalls zur Bildung von unterschiedlich großen Assemblaten kommt. [32] Der Nachteil dieser, auf Aggregation der NP basierten, Verfahren besteht darin, dass es keine Möglichkeit gibt, den Abstand der NP zueinander zu kontrollieren.

Durch die Verwendung von Abstandshaltern, welche auf die NP-Oberfläche binden, ist es möglich, die Distanz zwischen den NP zu beeinflussen. Hierzu werden kleine organische Moleküle [33–35], Polymere [36], Biomoleküle, wie Proteine [37] oder DNA [28,38–41], oder auch anorganische Materialien, wie SiO_2 [42], verwendet. Diese binden durch oberflächenaffine Gruppen an die NP und ersetzen dabei die Stabilisatormoleküle, welche zur Synthese der NP genutzt werden. Je nach Anwendung kann der Abstand zwischen den NP auf diese Weise eingestellt werden. DNA-basierte Assemblierungsmethoden ermöglichen durch die einfache Rekombination, von mit komplementärer DNA funktionalisierten NP, eine variable Methode zur Herstellung von Dimeren. Durch die Veränderung der Basenzahl der DNA-Sequenz ist es möglich, den Abstand der NP einzustellen. Aufgrund der Kopplung der Basenpaare ist es jedoch ohne weitere Modifikationen nicht möglich, Abstände in einem Bereich von weniger als 2 nm zu erreichen. Suh *et al.* stellten beispielsweise Dimere aus AuNP verknüpft, mittels DNA, her und ließen anschließend eine Ag-Schicht auf diese aufwachsen. Der Abstand zwischen den NP konnte so von über 3 nm auf unter 1 nm verringert werden, wodurch die Dimere für die konzipierte SERS-Anwendung die benötigte Verstärkung erreichten. [41] Ebenso kleine Abstände konnten Reinhard *et al.* bei DNA-verknüpften AuNP-Dimeren beobachten, jedoch erst, wenn die DNA-Stränge nicht rekombiniert vorlagen. [38] Eine weitere Möglichkeit besteht darin, eine Plattform aus DNA herzustellen, die als DNA-Origami bezeichnet wird, auf dem die beiden NP zu einem Dimer assemblieren. [43,44] Dies ermöglicht ebenfalls die genaue Positionierung von Molekülen im *hot spot*, welche dann bis auf Einzelpartikel-Niveau nachgewiesen werden können. [44–46] Methoden, bei denen bifunktionelle organische Moleküle, mit Edelmetall oberflächenaffinen

Gruppen, verwendet werden, ermöglichen es ebenfalls Dimere auszubilden. Der Abstand der NP wird dabei meist durch die Länge des verwendeten Moleküls bestimmt. [33–35] Die Ausbeute an Dimeren, die über dieses Verfahren hergestellt werden, sind hingegen oft sehr gering und benötigen weitere aufwendige Trennungsschritte, um reine Dimer-Dispersionen zu erhalten. Hierzu werden beispielsweise die hergestellten Assemblate verkapselt und über geeignete Methoden wie die Dichtegradientenzentrifugation getrennt (Abb. 3). [47, 48] Die Verkapselung kann hierbei über ein Polymer [48] (Rechts) oder SiO_2 [47] (Links) erfolgen.

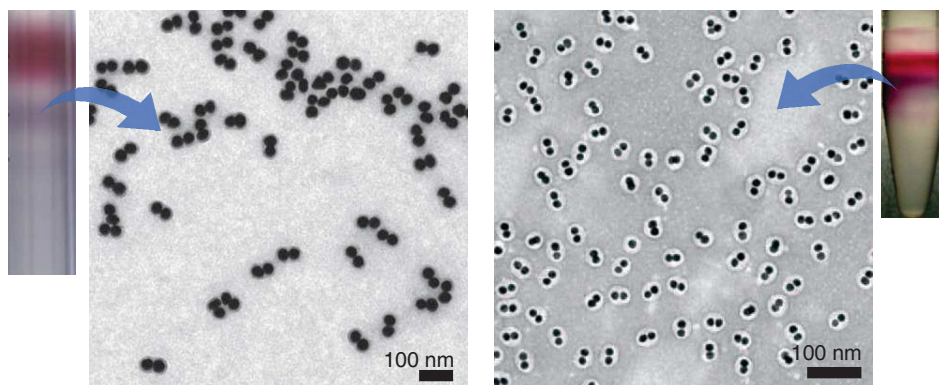


Abb. 3: Dichtegradientenzentrifugation von verkapselten Assemblaten und jeweiligen TEM-Aufnahmen der markierten Dimerfraktion (links [47], rechts [48]).

Der Nachteil all dieser Technik ist, dass der Abstand trotz verwendeter Brückenmoleküle nur bedingt kontrollierbar ist, da die Assemblierung meist auf elektrostatische Wechselwirkungen beruht. Des Weiteren wird dieser meist über Transmissionselektronenmikroskopie-Aufnahmen (TEM-Aufnahmen) bestimmt und ist damit ungenau. Denn durch den Elektronenstrahl kann es zur Veränderung der Distanz der NP zueinander kommen, vor allem bei sehr kleinen Abständen ist dies zu beobachten. Da die Energie des Elektronenstrahls größer ist als die Bindungsenergie der Oberflächenatome, führt dies zum Aufbrechen der Bindungen dieser Atome und zum Zusammensintern der NP. [49]

Yoon *et al.* [19, 20] entwickelten eine Substrat-basierte Assemblierungsmethode, bei der sich Dimere schrittweise auf einer Glasoberfläche gezielt über eine Monolage aus Brückenmolekülen aufbauen lassen. Hierzu kamen Alkyldithiole zur Anwendung mit denen es möglich ist, entsprechend der Länge der Alkylkette (in diesem Fall $(\text{CH}_2)_2$ bis $(\text{CH}_2)_{10}$), den Abstand einzustellen. Da es bekannt ist, dass Alkyldithiole hoch geordnete, selbstorganisierende Monolagen (SAM, *self-assembled monolayer*) auf Edelmetall-Oberflächen ausbilden [50, 51], ist es möglich, den Partikelabstand im sub-Nanometerbereich zu kontrollieren. [19, 20, 52, 53]

Der erste NP wird hierbei, wie in Abb. 4 gezeigt, elektrostatisch auf eine, mit Aminogruppen funktionalisierte, Glasoberfläche adsorbiert. Durch Behandlung mit NaOH werden in einem Desilanisierungsschritt die freien Aminogruppen, welche nicht zu einem NP binden, entfernt, damit der zweite NP nicht ebenfalls auf dem Substrat bindet. Anschließend erfolgt die Ausbildung des Alkyldithiol-SAMs auf den ersten NP. An diesen bindet im nächsten Schritt der zweite NP. Nach einer Stabilisierung der Dimere, können diese durch eine kurze Behandlung mit Ultraschall vom Glassubstrat dispergiert werden. Die Experimente mit Dimeren, aus Ag- (21 nm), bzw. AuNP (25 nm), verbrückt durch unterschiedlich lange Alkyldithiole zeigten, dass die Lage der Plasmonenkopplungsbande im Extinktionsspektrum, wie erwartet, mit kleiner werdendem Abstand

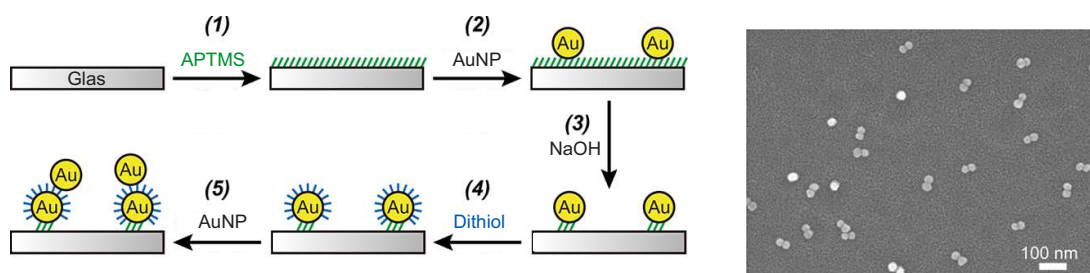


Abb. 4: Schema zur schrittweisen Substrat-basierten Assemblierung von Dimeren. (1) Glassubstrat durch APTMS mit Amino-Gruppen funktionalisiert, (2) auf dem der erste AuNP adsorbiert, (3) Entfernung der freien Amino-Gruppen mit NaOH, (4) Funktionalisierung der ersten AuNP mit Alkyldithiolen, (5) Anbindung der zweiten AuNP an den ersten AuNP, wodurch Dimere gebildet werden (links). REM-Aufnahmen der Dimere auf dem Glassubstrat (rechts).^[19]

weiter ins Rote verschoben wird. Bei Abständen die kleiner als 1 nm sind, ist eine Blauverschiebung der Kopplungsbande zu erkennen, welche sich nicht mehr über die klassische Elektrodynamik durch das Plasmonenhybridisierungsmodell beschreiben lässt. Hierbei treten Quantenphänomene auf, wie das Tunneln von Oberflächenelektronen zwischen den NP.^[13,54]

2.2.3 Plasmon-Spektroskopie

Mit optisch spektroskopischen Methoden lassen sich die Wechselwirkungen von elektromagnetischer Strahlung mit Edelmetall-Nanopartikeln beobachten. Auf Ensemblesniveau ist die LSPR mittels der UV-Vis-Extinktionsspektroskopie detektierbar. Das Extinktionsspektrum setzt sich aus den Streu- und Absorptionsanteilen der durchleuchteten NP-Dispersion zusammen. Durch das Vermessen vieler NP ist die Messgenauigkeit dieser Methode aufgrund der Mittelungseffekte zu groß, um Rückschlüsse auf die Morphologie oder den genauen Abstand der NP in einem Dimer zu erhalten. Die Dunkelfeld-Streuspektroskopie (DF-Spektroskopie) macht es jedoch möglich, einzelne Nanostrukturen gezielt zu untersuchen und diese anschließend zu vergleichen. Mit einem DF-Mikroskop werden die NP in einem optischen Mikroskop sichtbar gemacht, welches mit einem konventionellen Lichtmikroskop aufgrund des Abbe-Limits nicht möglich ist.^[55] Mit der Kombination aus der DF-Mikroskopie und der Spektroskopie kann das LSPR-Streuspektrum einzelner Nanostrukturen (Monomere NP, Dimere, etc.) gemessen werden.^[27, 28, 36, 38, 46, 56]

Über die Lage der Plasmonenkopplungsbande eines einzelnen Dimers kann der Abstand zwischen den beiden NP, bei gleicher Größe und Morphologie, ermittelt werden. Wie bereits erwähnt, lässt sich über die Streuspektroskopie eine Rotverschiebung des Maximums der Plasmonenkopplungsbande beobachten, wenn die Distanz der beiden NP in einem Dimer zueinander abnimmt. Baumberg *et al.* zeigte dies experimentell mithilfe von zwei Rasterkraftmikroskopiespitzen, an deren Enden sich jeweils ein AuNP (200 nm) befand (Abb. 5, links). Diese wurden aufeinander zubewegt und abhängig vom Abstand das Streuspektrum gemessen.^[12] Kommen die beiden NP an den Spitzen in einen Abstand von unter 1 nm, wird das Quantenregime erreicht, in dem es zum Ladungstransfer und Tunneln von Elektronen zwischen den beiden NP kommt (Abb. 5, rechts).^[12]

Neben dem Abstand hat auch die Form der verwendeten NP einen großen Einfluss auf die Lage der Plasmonenkopplungsbande. Sphärische NP weisen meist eine inhomogene Kristallstruktur auf.^[57,58] Die Plasmonenresonanz der NP reagiert sehr sensitiv auf Morphologieeigenschaften

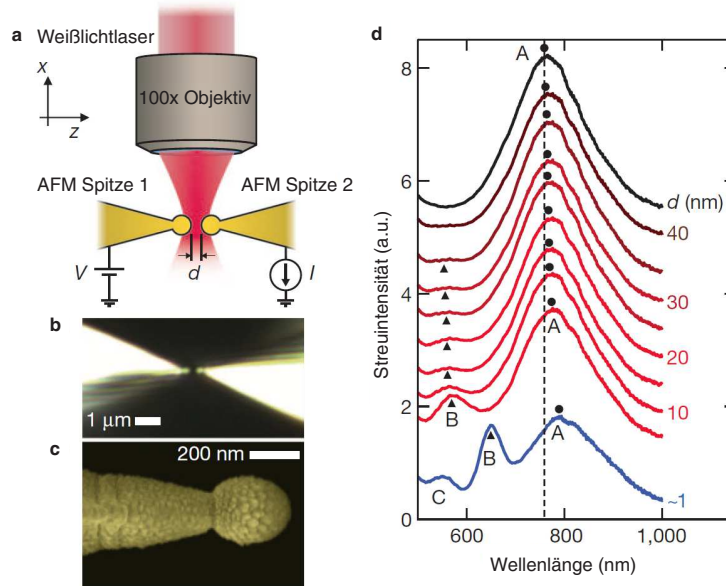


Abb. 5: Untersuchung der Abstandsabhängigkeit in einem Dimersystem. (a) Schematische Darstellung der optischen und elektronischen Messung des Abstandes zwischen zwei plasmonischen Spitzen, welche als DF-Bild (b) und REM-Aufnahme (c) gezeigt sind (links). Sowie experimentell bestimmte abstandsabhängige Streuspektren (d) (rechts). ^[12]

wie Kanten, Anzahl der unterschiedlichen Kristallfacetten ^[59] und Oberflächenrauigkeit. ^[60] Bei der Assemblierung der NP zu einem Dimer, hat daher die Orientierung der beiden NP zueinander einen erheblichen Einfluss auf die Position und den Verlauf der Plasmonenkopplungsbande. ^[23] Dies führt somit auch zu einer unterschiedlich hohen Verstärkung im *hot spot*. Für die spätere Anwendung oder den Vergleich zu idealen theoretischen Berechnungen von solchen Strukturen ist es daher nötig, NP mit einer homogenen Form herzustellen und diese in einen gleichen Abstand zueinander zu koppeln, damit die Morphologie des *hot spots* aller Dimere nahezu identisch ist und auf Einzelpartikelniveau ein einheitliches LSPR-Spektrum aufweisen.

2.2.4 Oberflächenverstärkte Raman-Streuspektroskopie

Die oberflächenverstärkte Raman-Streuspektroskopie (SERS-Spektroskopie, *surface-enhanced Raman scattering spectroscopy*) ist ein Spezialfall der Raman-Spektroskopie. C.V. Raman ^[61] beobachtete 1928 experimentell die inelastische Streuung von Photonen an Materie, welches als Raman-Effekt bezeichnet wird. Dabei ändert sich die Energie der gestreuten Photonen entsprechend dem angeregten Übergang und der dazugehörigen Energiedifferenz des jeweiligen Moleküls. Die inelastische Streuung des Lichts macht dabei nur einen geringen Teil der gestreuten Photonen aus. Der Hauptteil wird elastisch gestreut und als sogenannte Rayleigh-Streuung bezeichnet. Bei der inelastischen Streuung wird zwischen zwei Prozessen unterschieden, der Stokes- und anti-Stokes-Streuung (Abb. 6).

Wechselwirken Moleküle mit EM-Strahlung, wird durch die elektrische Feldstärke \vec{E} ein oszillierendes Dipolmoment $\vec{\mu}$ induziert. Die Polarisierbarkeit $\vec{\alpha}$ gibt an, wie stark ein Molekül mit dem elektrischen Feld wechselwirkt.

$$\vec{\mu} = \vec{\alpha} \cdot \vec{E} \quad (1)$$

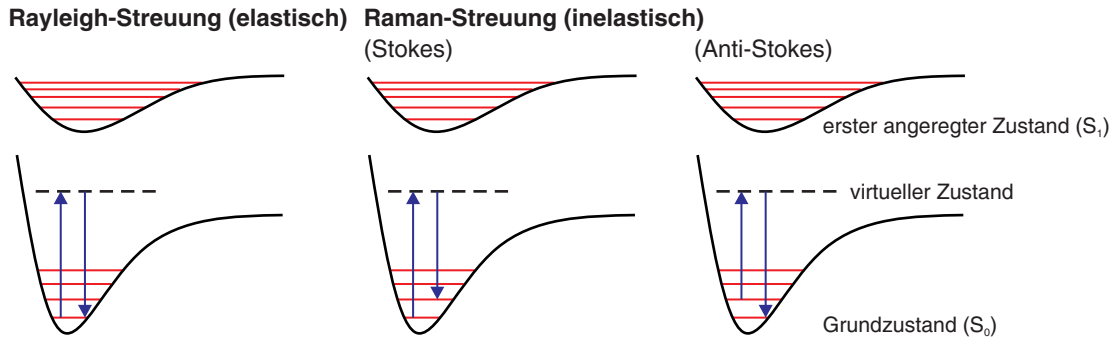


Abb. 6: Jablonski-Schema der Rayleigh (Links) und Stokes- (Mitte) und anti-Stokes-Raman-Streuung (Rechts). Wechselwirkt ein Photon mit einem Molekül, wird ein Elektron aus dem Schwingungsgrundzustand in einen virtuellen Zustand überführt. Fällt dies anschließend in denselben Grundzustand zurück, wird das Licht elastisch gestreut, welches als Rayleigh-Streuung bezeichnet wird. Bei der inelastischen Streuung ändert sich der Schwingungszustand beim Streuprozess. Die Stokes-Streuung beschreibt dabei den Fall, wenn sich das System nach dem Streuprozess in einem höheren und anti-Stokes, wenn das System sich in einem niedrigen Schwingungsniveau befindet. ^[62]

Je nach Raumrichtung kann die Polarisierbarkeit unterschiedliche Werte annehmen und wird über einen zweidimensionalen Tensor ausgedrückt.

$$\begin{bmatrix} \mu_x \\ \mu_y \\ \mu_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix} \quad (2)$$

Wird der eindimensionale Fall betrachtet, kann das elektrische Feld des eingestrahlten Lichts als Welle ausgedrückt werden.

$$E = E_0 \cdot \cos(\omega_0 t). \quad (3)$$

Für das induzierte Dipolmoment ergibt sich demnach:

$$\mu = \alpha_0 \cdot E_0 \cdot \cos(\omega_0 t). \quad (4)$$

Somit schwingt der induzierte Dipol mit derselben Frequenz wie die anregende Strahlung, welche als Rayleigh-Streuung bezeichnet wird. Weitergehend gilt für die Betrachtung der Schwingung eines Moleküls mit der Frequenz ω_R entlang einer Normalkoordinate q :

$$q = q_0 \cdot \cos(\omega_R t). \quad (5)$$

Die Normalkoordinate q entspricht dabei einer durch eine harmonische Schwingung hervorgerufene Auslenkung aus der Gleichgewichtslage, welche für kleine Auslenkungen über eine Taylor-Reihe entwickelt werden kann. Somit ergibt sich für die Änderung der Polarisierbarkeit α dieser Schwingung:

$$\mu = \alpha_0 \cdot E_0 \cdot \cos(\omega_0 t) + \frac{1}{2} \cdot \alpha_x \cdot E_0 \cdot [\cos(\omega_0 - \omega_R)t + \cos((\omega_0 + \omega_R)t)]. \quad (6)$$

Das Dipolmoment μ schwingt mit einer Frequenz, welche einer Überlagerung von Rayleigh- (ω_0), Stokes- ($\omega_0 - \omega_R$) und anti-Stokes-Streuung ($\omega_0 + \omega_R$) entspricht. Wird kein Dipolmoment

induziert ($\alpha_x=0$), tritt nur Rayleigh-Streuung auf und das betrachtete Schwingungsmoden ist nicht Raman-aktiv.

Die Intensität der anti-Stokes- ist im Vergleich zur Stokes-Streuung wesentlich geringer und die Besetzung der jeweiligen Zustände wird über die Boltzmann-Verteilung gegeben.

$$\frac{E_{\omega_1}}{E_{\omega_2}} = \exp\left(\frac{-\Delta E}{k_B T}\right) \quad (7)$$

Wobei $E_{\omega_1}/E_{\omega_2}$ dem Populationsverhältnis von angeregtem Schwingungszustand zum Schwingungs-Grundzustand entspricht. Die Intensität der Raman-Streuung hängt weitergehend von der verwendeten Laserleistung, sowie der Streuquerschnitte der zu spektroskopierenden Moleküle ab. Da der Raman-Streuquerschnitt im Vergleich zur Fluoreszenz- oder IR-Spektroskopie sehr gering ist, müssen entweder viele Moleküle vorliegen oder dieser durch spezielle Techniken erhöht werden.

Durch die Entdeckung der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (SERS, *surface-enhanced Raman scattering*) 1974 durch Fleischmann *et al.* [63] eröffnete sich ein neues Feld für die Raman-Spektroskopie. Van Duyne [64] und Moskovits [65] entwickelten kurze Zeit später die theoretische Beschreibung zum Verstärkungsmechanismus. Befinden sich Moleküle auf einer nanostrukturierten Oberfläche, wird dessen Raman-Streuung durch die LSPR verstärkt, wenn die Wellenlänge der zur Spektroskopie verwendeten Strahlung (monochromatisches Licht) mit der Plasmonenresonanz der Nanostruktur (NS) übereinstimmt. Die NS wirkt somit als Nanoantenne, die durch die lokale elektromagnetische Felderhöhung zu einer Verstärkung der Raman-Intensität führt.

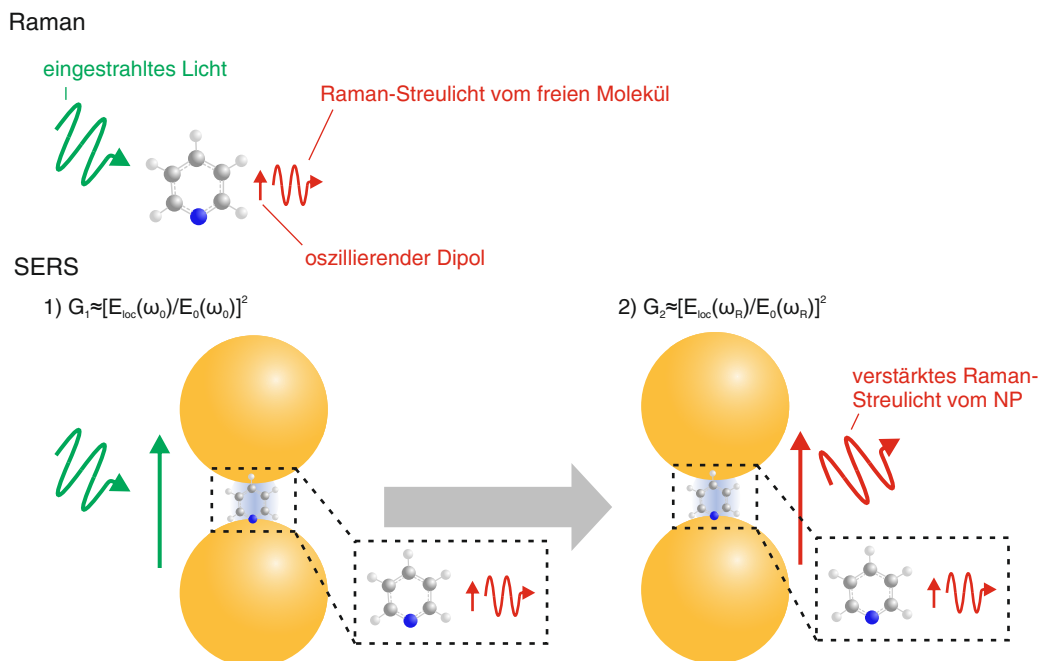


Abb. 7: Schematische Darstellung der SERS-Verstärkung im *hot spot* zwischen zwei NP [10]

Die Verstärkung des elektromagnetischen Feldes in der SERS ist ein zweistufiger Prozess. [10] Wechselwirkt die EM-Strahlung ω_0 , wie in Abb.7 gezeigt, mit der NS, wird das lokale

elektromagnetische Feld um diese herum verstärkt. Die NS dient dabei als empfangene optische Antenne, welche das Fern- in das Nahfeld transformiert. Im zweiten Schritt kommt es zum Anstieg der elektronischen Polarisierbarkeit des Molekül-NS-Systems. Diese entspricht etwa ein bis drei Größenordnungen der Polarisierbarkeit eines freien Moleküls, welches aus einer starken mehrfachen Anregung zwischen den induzierten Dipolen des Moleküls (kleine roter Pfeil) und dem Dipol (oder Multipolen) der NS (langer roter Pfeil) resultiert. Die NS transformiert somit bei der gestreuten Frequenz ω_R das Nah- in das Fernfeld und fungiert dabei als aussendende optische Antenne. Der Verstärkungsfaktor G_2 ist dabei proportional zum Quadrat des lokalen elektrischen Feldes E_{loc} bei ω_R .

Da die Frequenz des eingestrahnten Lichts ω_0 und die Stokes-Streuung für eine bestimmte Raman-Bande ($\omega_0 - \omega_R$) im blauen und grünen Wellenlängenbereich nahe beieinanderliegen, gilt in Näherung:

$$G = G_1 G_2 = \frac{|E_{loc}(\omega_0)|^2 |E_{loc}(\omega_R)|^2}{E_0(\omega_0)^2 |E_0(\omega_R)|^2} \approx \frac{|E_{loc}(\omega_R)|^4}{E_0(\omega_0)^4} \quad (8)$$

Ferner ist SERS ein oberflächensensitiver Effekt, da die elektromagnetische Feldstärke E_0 mit dem Abstand r von der Oberfläche der Nanostruktur mit r^{-3} abnimmt. Für die Verstärkung des SERS-Signals gilt somit durch die $|E|^4$ -Näherung, dass es zu einer Abnahme der SERS-Intensität mit r^{-12} kommt. Die Verstärkung ist daher direkt auf der Oberfläche am höchsten. Noch besser ist jedoch die Verstärkung in *hot spots* von Assemblaten wie Dimeren, Trimeren oder größeren Clustern. Dimere sind aufgrund ihrer Symmetrie, definierter *hot spot*-Geometrie und relativ gut kontrollierbarer Eigenschaften besonders interessant zur Erforschung grundlegender SERS-Phänomene.

2.2.5 SERS-aktive Dimere

Einzelne, sphärische NP weisen aufgrund ihrer geringen Feldverstärkung an der Oberfläche keinen hohen Verstärkungsfaktor (EF) auf, wodurch es nicht möglich ist, an ihnen grundlegende SERS-Verstärkungsphänomene zu erforschen oder sie als SERS-Marker in der Nanodiagnostik zu nutzen. [66] Bringt man jedoch zwei sphärische NP zusammen, kommt es an der Schnittstelle zwischen den beiden NP zu extremen Felderhöhungen, welche für die SERS-Spektroskopie genutzt werden können. Wie zuvor erwähnt, bieten Dimere aufgrund ihrer Eigenschaften eine optimale Plattform zur Erforschung und Aufklärung von Verstärkungsmechanismen oder Einzelmoleküleigenschaften. Weitergehend dienen diese auch, aufgrund ihrer hohen Signalintensität, als Basis für SERS-Marker in Bildgebungsanwendungen in Gewebeschnitten. [14] Mehrere Forschergruppen haben somit bereits versucht, einzelne NP zu Dimeren zu koppeln und diese mit einem Raman-aktiven Molekül (Raman-Reporter) zu funktionalisieren. Steinigeweg *et al.* stellten SERS-aktive Dimere durch Zugabe von Salz zu einer mit Raman-Reportern funktionalisierten NP-Dispersion her und verkapselten diese mit SiO_2 zur Stabilisation. [47] Da durch die Salzaggregation unterschiedlich große NP-Cluster entstehen, sowie Monomere zurückbleiben, wurden diese durch die Dichtegradientenfraction getrennt, die Dimere auf Einzelpartikelniveau charakterisiert, biokonjugiert und zur Bildgebung mittels der SERS-Spektroskopie in Gewebeschnitten genutzt. [14]

Alternativ können NP auch durch bifunktionelle SERS-aktive Brückenmoleküle [67, 68] oder einem

bifunktionellen Molekül und anschließender Inkubation mit einem Raman-Reporter ^[34] gekoppelt werden. Alle diese Methoden weisen jedoch unterschiedliche Schwächen auf, die zum Beispiel eine Reproduzierbarkeit und Quantifizierbarkeit der Raman-Intensität nicht möglich machen. Aufgrund der Unsicherheit der Anordnung der Moleküle im *hot spot*, sowie Oberflächenbedeckung und unterschiedliche plasmonische Kopplung ist es nicht möglich, experimentell verlässliche elektromagnetische Verstärkungsfaktoren zu bestimmen und diese mit idealen theoretischen Modellen zu vergleichen. Durch die Verwendung von nicht-ideal sphärischen NP für die Dimer-Herstellung lassen sich folgende Schwachpunkte der bisher verwendeten Dimere aufzählen:

- unterschiedliche Anzahl und Position an SERS-aktiven Molekülen im *hot spot*
- unterschiedlicher Abstand der NP
- unterschiedliche Morphologie des *hot spots*
- unterschiedliche Größe und Form der NP

Daher sind die hier gezeigten und bisher bekannten Dimer-Synthesen nur bedingt für quantitative Bildgebungsanwendungen geeignet. Die gleichen Schwächen treten auch bei der Beobachtung von Einzelmolekül-SERS-Events auf. Aufgrund der uneinheitlichen *hot spot*-Geometrie und Morphologie ist es schwer, die Signalintensitäten einzelner Dimere untereinander zu vergleichen. Daher ist es nötig, nahezu ideale definierte Strukturen herzustellen, welche aus zwei perfekt sphärischen NP bestehen, die reproduzierbar in einem definierten fixen Abstand zueinander positioniert werden können. Somit ist es möglich, theoretische und experimentelle Ergebnisse miteinander zu vergleichen. ^[69]

3 Material und Methoden

3.1 UV-Vis-Extinktions-Spektroskopie

Mit der UV-Vis-Extinktionspektroskopie kann die Absorption und Streuung im ultravioletten und sichtbaren Wellenlängenbereich untersucht werden. Moleküle absorbieren das eingestrahlte Licht, wohingegen NP dieses auch streuen. Als Extinktion wird die Summe aus Lichtabsorption und -streuung bezeichnet. Die Messungen erfolgten an einem Jasco V-630- und Perkin Elmar Lambda 950-Spektrometer. Alle UV-Vis-Extinktionsspektren wurden in einer 1 cm Quartz-Küvette (Hellma Analytics) aufgenommen. Als Referenz für das Hintergrundsignal wurde das jeweilige verwendete Lösungsmittel verwendet. Zur Aufnahme der Spektren der Dimere direkt vom Glassubstrat wurde das Glasplättchen diagonal in einer 1 cm \times 1 cm Küvette, gefüllt mit EtOH, platziert. Als Hintergrundsignal wurde ein sauberes unfunktionalisiertes Glasplättchen, ebenfalls in EtOH, verwendet.

3.2 Transmissionselektronenmikroskopie

Bei einem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) werden Elektronen erzeugt, beschleunigt und auf die Probe geschossen. Die Elektronen wechselwirken dabei mit den Atomen der Probe und werden elastisch, inelastisch bzw. nicht gestreut. Bei der Transmissionselektronenmikroskopie wird die zu untersuchende Probe mit dem Elektronenstrahl durchstrahlt, so dass eine Art Schattenabbild des Objektes zu detektieren ist. Die Methode wurde verwendet, um die Größe (Durchmesser) der synthetisierten NP zu bestimmen und eine Aussage über die Form zu treffen. Die dispergierten Nanostrukturen (1 μ L bis 4 μ L) wurden auf ein kleines, mit Kohlenstoff bedampftes, Kupfergitter getropft und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Messung erfolgte an einem Zeiss EM 910-Transmissionselektronenmikroskop mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV. Die Auswertung der Größe über die aufgenommenen TEM-Bilder erfolgt anschließend mittels ImageJ.

3.3 Rasterelektronenmikroskopie

Im Gegensatz zur Transmissionselektronenmikroskopie wird bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM) die Probe nicht durchstrahlt, sondern die Oberfläche der Probe mit einem Elektronenstrahl abgerastert. Somit lassen sich Aussagen über die Morphologie und Rauigkeit eines Objektes machen. Die REM wurde dazu verwendet, um Bilder der auf dem Glassubstrat immobilisierten NP und Dimere zu machen, um eine Aussage über die Oberflächenbedeckung der NP oder Dimer-Ausbeute zu treffen. Zur Aufnahme von REM-Bildern wurden die Glassubstrate nach der Präparation mit MeCN gewaschen und mit einem starken Stickstoff-Strom getrocknet. Um die Substrate leitfähig zu machen, wurden diese mit 1 nm bis 2 nm Pt besputtert und anschließend an einem Jeol JSM 7500F-Rasterelektronenmikroskop vermessen.

3.4 Dunkelfeld-Aufbau zur Einzelpartikeldetektion

Der im Rahmen dieser Arbeit verwendete Dunkelfeld-Aufbau besteht zum einen aus einem Raman- und zum anderen Streuspektroskopie-Teil. Beide Teile werden im Folgenden einzeln beschrieben und können zusammen zur korrelativen elastischen und inelastischen Einzelpartikel-Streuspektroskopie genutzt werden.

Streuspektroskopie

Der Aufbau setzt sich unter anderem aus einem inversen Mikroskop (Eclipse Ti-S, Nikon) mit einer Wolfram-Halogenlampe (100 W), einem Öl-Immersions-Dunkelfeldkondensor (NA: 1.20-1.43) und einem 100× Plan Achromat Objektiv (NA: 0.90) zusammen. Mit Hilfe einer Irisblende (I) kann der Messbereich soweit verkleinert werden, dass bei einer geeigneten Oberflächen-Partikelbedeckung das Streulicht eines einzelnen Partikels im Spektrometer (QE Pro, Ocean Optics) detektierbar ist. Zur Lokalisierung der Partikel wird eine, senkrecht zum Strahlengang platzierte, CCD-Kamera verwendet. Für die Messungen der polarisationsabhängigen Streuspektren wurde ein Polarisator (nicht eingezeichnet) vor die Irisblende (I) platziert, so dass nur eine Polarisationsrichtung des Lichts auf den Detektor gelangt.

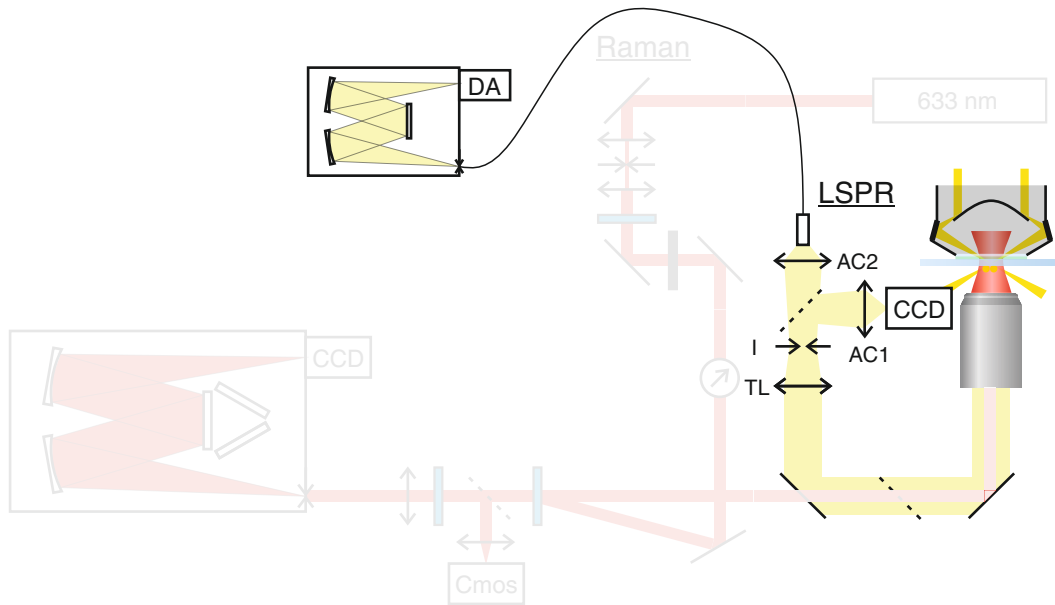


Abb. 8: Strahlengang des Dunkelfeld-Aufbaus zur Einzelpartikel-Streuspektroskopie. (AC: Achromat Linse, I: Irisblende, TL: Tubuslinse)

Zur Probenpräparation wurden ca. 4 μL der dispergierten Nanostrukturen in einer Konzentration zwischen 1 pM und 5 pM auf einen Glasobjektträger gegeben und bei Raumtemperatur getrocknet. Um ein Spektrum aufzunehmen, wurde eine einzelne Nanostruktur über das Bild der CCD-Kamera ausgewählt und in der Mitte der Irisblende (I) platziert. Alle Spektren wurden bei der gleichen Lichtintensität ($T=4093\text{ K}$, Wiensches Verschiebungsgesetz) und mit einer Belichtungszeit von 30 s aufgenommen. Auf gleiche Weise wurde ein Hintergrundspektrum direkt neben der Nanostruktur aufgenommen. Hierzu wurde die Probe so bewegt, dass sich kein Teilchen im Bildausschnitt befand. Das Hintergrundspektrum ($I_{\text{Hintergrund}}$) wurde anschließend vom Partikelspektrum (I_{Partikel}) subtrahiert und durch das Lampenprofilspektrum (I_{Lampe}) geteilt.

$$I_{\text{Korrigiert}} = \frac{I_{\text{Partikel}} - I_{\text{Hintergrund}}}{I_{\text{Lampe}}} \quad (9)$$

Das Lampenprofilspektrum zeigt die Wellenlängenabhängigkeit der Lampenintensität und wird unter den gleichen Bedingungen aufgenommen wie das Proben- und Hintergrundspektrum. Die bearbeiteten Streuspektren ($I_{\text{Korrigiert}}$) wurden anschließend mit einem Savitzky-Golay-Filter (4. Ordnung über 101 Datenpunkte) geglättet und sind im Rahmen dieser Arbeit immer zusammen

dargestellt (Ausnahme polarisationsabhängige Messungen zeigen nur geglättete Spektren).

Raman-Spektroskopie

Der zweite Teil des Aufbaus besteht aus dem Raman-Kanal. Zur Anregung der Probe wird die 632.8 nm He-Ne-Laserlinie verwendet. Der Strahl wird über ein Teleskop von ca. 0.7 mm auf 8 mm aufgeweitet. In der Brennebene des Teleskops befindet sich eine 50 μm große Lochblende zur Reinigung des Strahlprofils (Ortsfrequenzfilter). Am Ausgang des Teleskops werden durch einen Kerbfilter (NF) die Plasmalinen des He-Ne-Lasers geblockt, so dass nur noch die Hauptlinie bei 632.8 nm zur Beleuchtung genutzt wird. Über einen Neutralsdichtefilter (ND) wird die Intensität abgeschwächt und anschließend über einen Polarisator (P) zur Einstellung der Laserleistung geleitet. Durch einen Kerbfilter (NF) wird der Laserstrahl in einem Spitzenwinkel in das Mikroskop eingekoppelt und auf die Probe geleitet. Das gestreute Licht wird zurückgestreut und im Spektrometer (iHR 550, Horiba) mit einem 600 Strich/mm-Gitter spektral aufgelöst und auf der CCD-Kamera (Synapse, Horiba) detektiert.

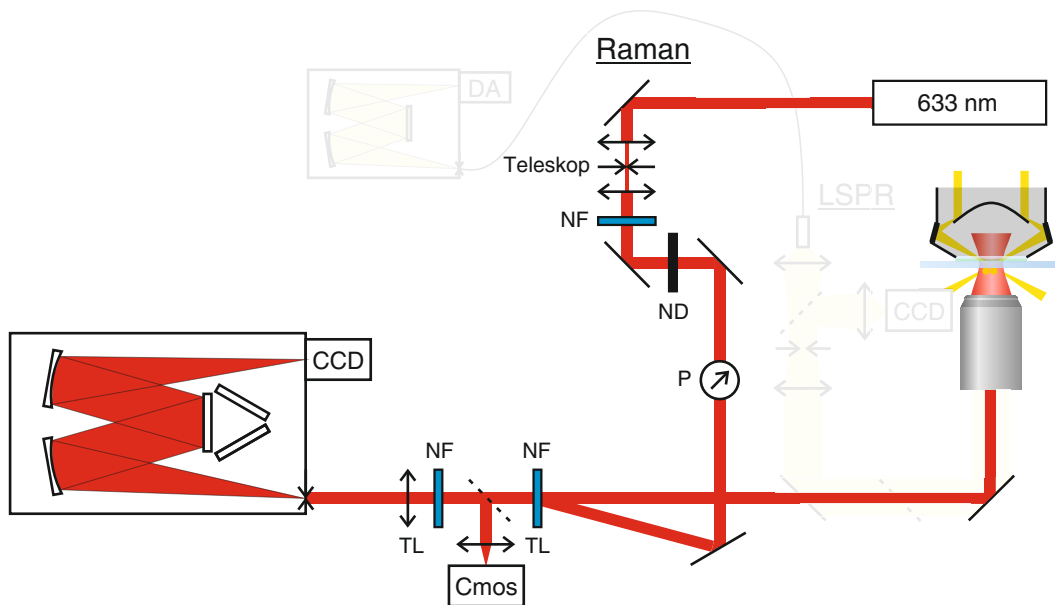


Abb. 9: Strahlengang des Dunkelfeld-Aufbaus zur Einzelpartikel-Raman-Spektroskopie. (NF: Kerbfilter, ND: Neutralsdichtefilter, P: Polarisator, TL: Tubuslinse)

Zur Messung der polarisationsaufgelösten SERS-Spektren wurde eine $\lambda/2$ -Platte vor dem Objektiv platziert (nicht eingezeichnet), so dass nur eine Polarisationsrichtung des Raman-Streulichts zum Detektor gelangen konnte.

3.5 Chemikalien und Lösungsmittel

Folgende aufgeführte Chemikalien wurden für die NP-Synthese und die Assemblierung zu Dimeren verwendet.

Gold(III)tetrachlorid Trihydrat ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\geq 99.9\%$, Aldrich), Silber(I)nitrat (AgNO_3 , 99.99% , Aldrich), tri-Natriumcitrat Dihydrat (Citrat, $\geq 99\%$, Fluka), Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB, $\geq 96\%$, Fluka), Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC, $> 95.0\%$, TCI), Natriumborhydrid (NaBH_4 , 96% , Aldrich), Ascorbinsäure (AA, $\geq 99.0\%$, AppliChem), 1,2-Ethandithiol (C2, $\geq 98\%$, Aldrich), 1,4-Butandithiol (C4, 95% , TCI), 1,6-Hexandithiol (C6, 96% , Aldrich), 1,8-Octandithiol (C8, $\geq 97.0\%$, TCI), 1,10-Decandithiol (C10, $> 98.0\%$, TCI), 1,16-Hexadecandithiol (C16, 99% , Aldrich), Thiophenol (TP, 97% , Aldrich), (11-Mercaptoundecyl)-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid (MUTMAB, $\geq 90.0\%$, Aldrich), Mercaptoundecansäure (MUA, 95.0% , Aldrich), Natriumbromid (NaBr , $\geq 99.5\%$, Aldrich), Ethanol (EtOH , HPLC Reinheit, Fisher Scientific), und Acetonitril (MeCN , HPLC Reinheit, Fisher Scientific). Alle Chemikalien wurden so verwendet, wie erhalten. Deionisiertes Wasser (Leitfähigkeit $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) wurde über ein Millipore Milli-Q System bereitgestellt.

3.6 Nanopartikel-Synthesen

3.6.1 Synthese von Silber-Nanopartikeln

Die Synthese von Citrat-stabilisierten AgNP erfolgte nach der Methode von Steinigeweg *et al.* [70] Hierzu wird ein Glycerin-Wasser-Gemisch (48 mL, 40 vol-% Glycerin) unter Rühren (1200 rpm) auf 95°C erhitzt. Nach Erreichen der Temperatur wurden 9 mg Silbernitrat und eine Minute später Natriumcitrat (30 mg), gelöst in Wasser (je 1 mL), hinzugegeben und für eine Stunde bei 95°C gerührt. Das entstandene Kolloid wird nach dem Abkühlen bei 4°C gelagert.

3.6.2 Synthese von Citrat-stabilisierten AuNP

Die Synthese von Citrat-stabilisierten AuNP erfolgt über die kinetisch-kontrollierte Keimpartikelwachstumsmethode von Bastús *et al.* [71].

Zunächst wurden hierbei Keimpartikel über die klassische Turkevich-Methode hergestellt. [69] Es wurde eine 0.2 M HAuCl_4 -Lösung ($317.5 \mu\text{L}$) mit Wasser (248.7 mL) verdünnt und zum Sieden (100°C) erhitzt. Diese wurde zügig mit einer 0.425 M Citrat-Lösung (1 mL) unter starkem Rühren (1400 rpm) versetzt. Die Mischung wurde weitere 30 min erhitzt und gerührt, wobei sich die Farbe des Gemisches von farblos klar nach rot veränderte. Das Extinktionsspektrum der Keimpartikel wies ein Maximum der Plasmonenbande λ_{max} bei 519 nm auf. Die mittlere Größe der AuNP war $16.8 \pm 1.3 \text{ nm}$, welche mittels TEM-Aufnahmen bestimmt wurde.

Um die AuNP auf eine Größe von 25 nm bzw. 50 nm wachsen zu lassen, wurde eine 25 mM HAuCl_4 - und 60 mM Natriumcitrat-Lösung hergestellt. Die AuNP-Keimpartikel-Dispersion wurde auf 90°C erhitzt und entsprechend Tab. 1 in den beschriebenen Zeitintervallen mit den jeweiligen Reaktanden versetzt. Die mittlere Größe der NP wurde mittels TEM-Aufnahmen und das Maximum der Plasmonenbande λ_{max} mittels der UV-Vis-Extinktionsspektroskopie bestimmt. Die ermittelten Werte sind in Tab. 1 aufgeführt.

Tab. 1: Reaktionsbedingung und Ergebnisse für die Synthese von Citrat-stabilisierten AuNP.

				25 nm	50 nm
Keimpartikel				100 mL	63 mL
Schritt 1	Wasser			100 mL	10 mL
	Citrat	5 min		$800 \mu\text{L}$	$620 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min		$400 \mu\text{L}$	$310 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min		$400 \mu\text{L}$	$310 \mu\text{L}$
Schritt 2	Wasser			200 mL	60 mL
	Citrat	5 min		$1710 \mu\text{L}$	$1200 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min		$860 \mu\text{L}$	$600 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min		$850 \mu\text{L}$	$600 \mu\text{L}$
Schritt 3	Wasser				120 mL
	Citrat	5 min			$2400 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$1200 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$1200 \mu\text{L}$
Schritt 4	Wasser				200 mL
	Citrat	5 min			$4800 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$2400 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$2400 \mu\text{L}$
Schritt 5	Wasser				
	Citrat	5 min			$8500 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$4800 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$3700 \mu\text{L}$
Schritt 6	Wasser				115 mL
	Citrat	5 min			$7600 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$3800 \mu\text{L}$
	HAuCl_4	35 min			$3800 \mu\text{L}$
Größe				$25.8 \pm 2.2 \text{ nm}$	$50.9 \pm 6.1 \text{ nm}$
λ_{max}				522 nm	531 nm

3.7 Dimer-Assemblierung von Citrat-stabilisierten AuNP

Die Präparation von nicht-idealen Dimeren, die in Kapitel 4.1. verwendet wurden, erfolgte über die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierung von Citrat-stabilisierten AuNP durch eine molekulare Dithiol-Brücke. ^[19] Hierzu wurde ein Glassubstrat (25 mm × 12 mm) mit einer warmen RBS-Lösung (15 %ig, 90 °C) gereinigt, mit Wasser gewaschen und für 30 min in eine 1:1 Mischung aus MeOH und HCl (konz.) gegeben. Anschließend wurde das Glassubstrat für 6 h bei 100 °C im Ofen getrocknet.

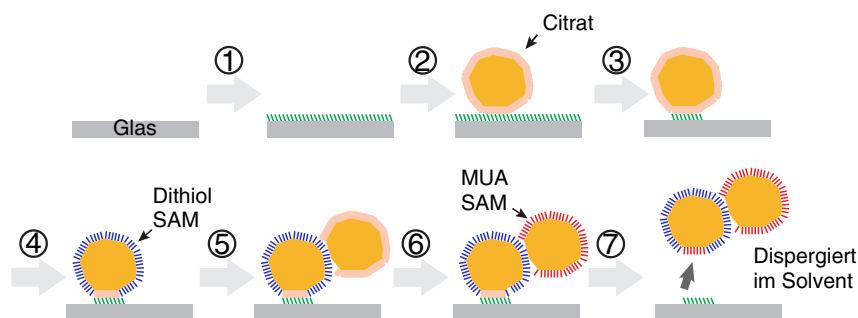


Abb. 10: Schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode von Citrat-stabilisierten AuNP.

Schritt 1: Zur Adsorption der ersten AuNP wurde die Glasoberfläche mit Aminogruppen funktionalisiert. Hierzu wurde das abgekühlte Glasplättchen für 30 min in einer 1 %igen ethanolischen APTMS-Lösung inkubiert, gründlich mit EtOH gewaschen, 5 min mit in EtOH im Ultraschallbad behandelt und für 3.5 h im Ofen bei 120 °C gebacken.

Schritt 2: Das abgekühlte Amino-funktionalisierte Glassubstrat wurde anschließend in eine wässrige AuNP-Dispersion (24 nm, 84 pM, 5 mL) für 4 h inkubiert.

Schritt 3: Zur Entfernung aller Aminogruppen auf der Glasoberfläche, welche nicht mit einem AuNP binden, wurde das Glassubstrat mit Wasser gewaschen und für 4.5 h in einer 10 mM NaOH-Lösung getaucht.

Schritt 4: Das Substrat wurde mit Wasser und EtOH gereinigt und in einer 1 mM ethanolischen Dithiol-Lösung (Aryl- oder Alkyldithiol) für 11 h inkubiert.

Schritt 5: Das überschüssige Alkandithiol wurde vom funktionalisierten Substrat mit EtOH und Wasser gewaschen und zur Anbindung des zweiten NP für 8 h in eine AuNP-Dispersion (24 nm, 167 pM, 5 mL) gegeben.

Schritt 6: Durch Waschen mit Wasser und EtOH wurden ungebundene AuNP entfernt. Das Glassubstrat wurde in einer 1 mM ethanolischen MUA-Lösung (5 mL) inkubiert.

Schritt 7: Nach 1 h wurde das Substrat mit EtOH gewaschen und in eine 10 µM ethanolische MUA-Lösung (5 mL) gegeben. Durch kurze Ultraschallbehandlung (30 s) wurden die Dimere vom Glassubstrat desorbiert.

3.7.1 Modifizierte Methode zur Dimer-Assemblierung von Citrat-stabilisierten AuNP ohne Desilanisierung

Da der Desilanisierung-Schritt, der in Kapitel 3.7 durchgeführt wurde, je nach Laborbedingungen nur unzureichend gut funktioniert und ein großer Zeitfaktor in der Assemblierung darstellt, wurde für die Dimere aus 50 nm AuNP eine alternative Methode entwickelt.

Die Vorbereitung des Glassubstrats, sowie Schritt 1 sind identisch mit der zuvor beschriebenen Methode.

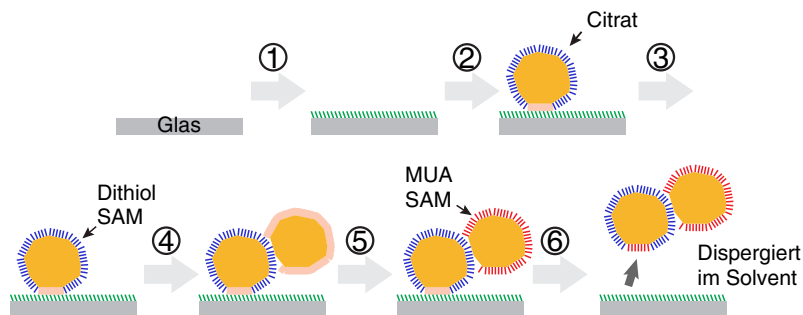


Abb. 11: Schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode von Citrat-stabilisierten AuNP ohne Desilanisierung.

Schritt 2: Das mit Amino-funktionalisierte Glasplättchen wurde in eine AuNP-Dispersion (50 nm, 10 pM, 5 mL) mit 1 mM HCl für 15 h inkubiert.

Schritt 3: Das Substrat wurde anschließend zur Entfernung der überschüssigen AuNP mit Wasser und EtOH gewaschen und in einer 1 mM ethanolischen Alkyldithiol-Lösung für 1 h inkubiert.

Schritt 4: Damit der zweite AuNP nicht wie der erste AuNP auf die Amino-funktionalisierte Glasoberfläche bindet, musste das Dispersionsmedium der NP von Wasser zu EtOH gewechselt werden. Die wässrige AuNP-Dispersion (50 nm) wurde zentrifugiert ($590 \times g$, 20 min) und in EtOH (5 mL) redispersiert, sodass die AuNP-Konzentration 150 pM betrug. Das Glassubstrat wurde nach Schritt 3 mit EtOH und Wasser gewaschen und für 3.5 h in die ethanolischen AuNP-Dispersion gegeben.

Schritt 5: Durch Waschen mit Wasser und EtOH wurden ungebundene AuNP entfernt. Das Glassubstrat wurde anschließend in einer 1 mM ethanolischen MUA-Lösung (5 mL) inkubiert.

Schritt 6: Nach 1 h wurde das Substrat mit EtOH gewaschen und in eine 10 μ M ethanolische MUA-Lösung (5 mL) gegeben. Durch kurze Ultraschallbehandlung (30 s) wurden die Dimere vom Glassubstrat desorbiert.

3.7.2 Synthese von super-sphärischen Gold-Nanopartikeln

Die Herstellung von super-sphärischen AuNP (ssAuNP) erfolgte über vier Reaktionsschritte. Hierzu wurden zunächst Au-Cluster durch Reduktion von HAuCl_4 durch NaBH_4 in CTAB-Lösung erzeugt. Diese wuchsen zu Keimpartikeln, welche anschließend zu Nanopolyedern umgesetzt wurden. Durch eine milde Oxidation der Au-Oberflächenatome durch HAuCl_4 der Polyeder lassen sich ssAuNP herstellen. Um diese NP anschließend zu Dimeren zu assemblieren, ist es nötig, überschüssiges CTAB aus der NP-Dispersion zu entfernen und diese mit Wasser zu waschen.

1. Cluster

10 mM HAuCl_4 -Lösung (250 μL) wurde mit einer 100 mM CTAB-Lösung (180 mL) gemischt und rasch mit einer frisch hergestellten, eiskalten 10 mM NaBH_4 -Lösung (600 μL) versetzt. Das Gemisch wurde kurz geschüttelt und für drei Stunden bei 30 °C gelagert.

2. Keimpartikel

60 μL der zuvor hergestellten Cluster wurden in ein Gemisch aus CTAB (100 mM, 4.88 mL), Wasser (95.0 mL), HAuCl_4 (10 mM, 2.0 mL) und Ascorbinsäure (10 mM, 9.0 mL) gegeben, kurz geschüttelt und für drei Stunden bei 30 °C gelagert. Die entstanden kleinen AuNP wurden zentrifugiert (11000 rpm, 30 °C, 40 min) und in Wasser (25 mL) redispergiert.

3. Nanopolyeder

Durch die verwendete Menge an Keimpartikeln kann die Größe der Nanopolyeder vorgegeben werden. Zur Herstellung von 50 nm super-sphärischen AuNP wurden 9.0 mL der Keimpartikel (etwa 25 nm) in eine 25 mM CTAB-Lösung (180 mL) gegeben. Diese wurde schrittweise mit Ascorbinsäure (10 mM, 4.5 mL) und HAuCl_4 (10 mM, 9.0 mL) versetzt, geschüttelt und für drei Stunden bei 30 °C gelagert. Die entstanden AuNP wurden zentrifugiert (3000 rpm, 60 min) und in CTAB (20 mM, 30 mL) redispergiert.

4. Super-sphärische AuNP

30 mL der Nanopolyeder (etwa 54 nm) wurden mit einer CTAB-Lösung (300 mL) verdünnt, mit HAuCl_4 (10 mM, 1080 μL) versetzt und zwei Stunden bei 45 °C gerührt (750 rpm).

5. Entfernung des CTAB und Aufkonzentration der AuNP (notwendig für Dimer-Assemblierung!)

Die Reaktionsmischung wurde zentrifugiert (12x 27.5 mL, 3000 rpm, 45 min), der Rückstand (etwa 300 μL) jeweils in 1.5 mL Wasser redispergiert und erneut zentrifugiert (2500 rpm, 35 min). Die Rückstände (12x etwa 80 μL) wurden in 1.6 mL Wasser vereinigt.

Die Größe der hergestellten AuNP wurde mittels TEM-Aufnahmen ermittelt und die NP-Konzentration anhand der bestimmten Größe und der Extinktion am Maximum der LSPR-Bande berechnet.

3.8 Dimer-Assemblierung von CTAB-stabilisierten ssAuNP

Die Präparation von idealen Dimeren erfolgt über die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierung von CTAB-stabilisierten ssAuNP durch eine molekulare Dithiol-Brücke. Hierzu wurde ein Glassubstrat (25 mm × 12 mm) mit einer warmen RBS-Lösung (15 %ig, 90 °C) gereinigt, mit Wasser gewaschen und mit einer CTAB-Lösung (5 μ M, 5 mL), welche ssAuNP (50 nm, 5 pM) enthält, für 17 h bei 30 °C inkubiert. Anschließend erfolgt, wie in Abb. 12 schematisch gezeigt, die schrittweise Assemblierung der ssAuNP zu Dimeren, ebenfalls bei 30 °C.

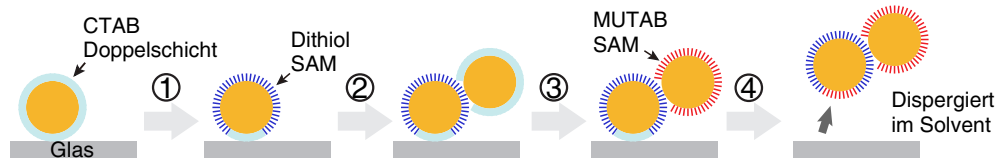


Abb. 12: Schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode von CTAB-stabilisierten ssAuNP.

Schritt 1: Nach der Adsorption der ersten ssAuNP wurde das Glassubstrat mit Wasser und EtOH gereinigt und in eine 1 mM ethanolische Alkandithiol-Lösung (5 mL), welche 1 mM NaBr enthält, für 1 h inkubiert.

Schritt 2: Das überschüssige Alkandithiol und NaBr wurde vom funktionalisierten Substrat mit EtOH und MeCN gewaschen und in eine Dispersion aus MeCN (5 mL), ssAuNP (20 pM) und NaBr (200 μ M) für 5 h gegeben. Die zweiten ssAuNP binden hierbei nur an den ersten ssAuNP und wechselwirken nicht mit dem Glassubstrat.

Schritt 3: Durch Waschen mit MeCN und EtOH wurden ungebundene ssAuNP und überschüssiges NaBr entfernt. Das Glassubstrat wurde in einer 1 mM ethanolischen MUTMAB-Lösung (5 mL) mit 1 mM NaBr inkubiert.

Schritt 4: Nach 1 h wurde das Substrat mit EtOH gewaschen und in eine 10 μ M ethanolische MUTMAB-Lösung (5 mL) gegeben. Durch kurze Ultraschallbehandlung (30 s) wurden die Dimere vom Glassubstrat desorbiert.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese eines bifunktionellen Brückenmoleküls

4.1.1 Einleitung und Aufgabenstellung

Vor 20 Jahren wurden das erste Mal von Kneipp *et al.* [31] und Nie *et al.* [30] Einzelmolekül-Ereignisse mittels der SERS-Spektroskopie detektiert. Seither hat dieser Bereich an enormer Bedeutung gewonnen, um grundlegende SERS-Phänomene und die Schwingungseigenschaften einzelner Moleküle aufzuklären. In den ersten Ansätzen wurden einzelne Moleküle eines Raman-Farbstoffs (Kristallviolett [31] bzw. Rhodamin 6G [30]) auf aggregierten AgNP beobachtet und ermittelten dabei einen SERS-EF von 10^{14} . Durch die sehr geringen Konzentrationen an Farbstoffmolekülen, so dass sich pro *hot spot* weniger als ein Molekül befindet, und die Fluktuation des SERS-Signal wurde das Vorhandensein einzelner Moleküle begründet, jedoch kann die Detektion mehrerer Moleküle über diesen Ansatz nicht ausgeschlossen werden. Le Ru *et al.* [72] entwickelten daher den Bi-Analyt-Ansatz, basierend auf zwei Raman-Farbstoffen (Rhodamin 6G und Benzotriazol), die unterschiedliche SERS-Spektren aufweisen. Über statistische Methoden konnte somit auf die Detektion einzelner Moleküle geschlossen werden. [18] Jedoch besitzen beide Farbstoffe unterschiedliche elektronische und schwingungsspektroskopische Eigenschaften, wodurch unterschiedliches Adsorptionsverhalten auf der NS und Raman-Streuquerschnitt resultieren. Dadurch wird die genaue Auswertung und Interpretation der detektierten Spektren erschwert.

Durch die Verwendung von Isotopologen eines Raman-Farbstoffs kann dieser Nachteil umgangen werden. Dabei unterscheiden sich die beiden Moleküle lediglich in der Anzahl ihrer Isotopen, wodurch eine Verschiebung der Schwingungsfrequenz zu beobachten ist. Van Duyne *et al.* [73] verwendeten d_4 -Rhodamin 6G, bei dem die Wasserstoffatome des Phenylringes durch Deuterium substituiert sind, und normales Rhodamin 6G für seine Messung auf AgNP-Aggregaten.

In den bisherigen Ansätzen wurden die Bildung der *hot spots* durch Aggregation mit Salz (NaCl oder KCl) erzeugt und der Farbstoff gelangte zufällig durch Diffusion in diese hinein. Somit kann keine genaue Aussage über die Position oder Orientierung des Moleküls im *hot spot* bzw. auf der Oberfläche getroffen werden. Um diese Faktoren kontrollieren zu können, soll im Rahmen dieser Arbeit ein funktionalisierbares Brückenmolekül synthetisiert werden, welches zwei NP zu einem Dimer exakt miteinander verbindet und auf dem ein Raman-Farbstoff gekoppelt werden kann, welcher sich dann im *hot spot* befindet. Des Weiteren sollen Isotopologen von Rhodamin B-Derivaten hergestellt werden, die als Raman-Farbstoffe für den Einzelmolekülnachweis dienen sollen.

4.1.2 Synthese von bisdendritischen Brückenmolekülen

Zur gezielten Synthese und molekularen Verbrückung von Edelmetall-NP zu Clustern sollte ein bisdendritisches Brückenmolekül auf Basis eines Malonats hergestellt werden. An diesen molekularen Brücken soll ein Raman-Farbstoff-Molekül gekoppelt werden, um diese gezielt im *hot spot* zwischen den NP zu immobilisieren (Abb. 13).

Um die Verbrückung der NP zu untersuchen, wurde zunächst das Brückenmolekül ohne einen Raman-Farbstoff synthetisiert. Wie in Schema 1 gezeigt, wurde Diethylmalonat mit Ethylendiamin

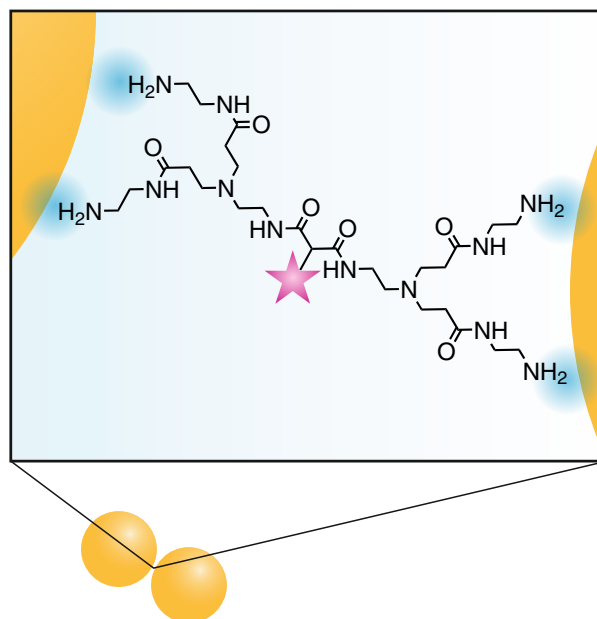
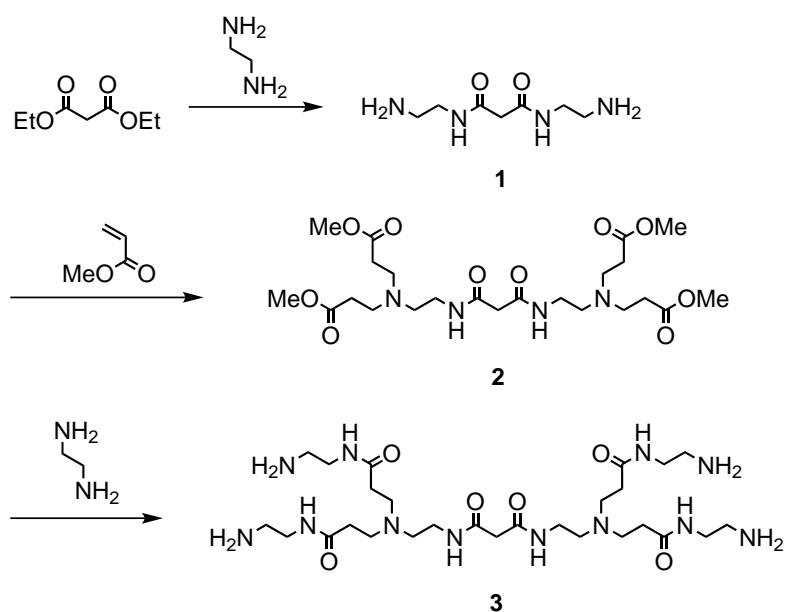


Abb. 13: Schematische Darstellung zur Verbrückung von Edelmetall-NP durch ein bisdendritisches Brückenmolekül, an dem ein Raman-Farbstoff (Stern) gekoppelt ist. Das Brückenmolekül bindet durch elektrostatische Wechselwirkung der Aminogruppen an den NP.

nahezu quantitativ zum Diamin **1** umgesetzt.^[74] Anschließend erfolgt die Addition von zwei Methylacrylaten pro Aminogruppe. Durch die Umsetzung mit Ethylendiamin kommt es zur Substitution der Methoxygruppen und zum Bisdendron der Generation 1.0 (BD G1.0).^[75] Als Produkt **3** wurde ein klares, gelbliches Öl in einer Ausbeute von 86 % isoliert.

Die Anbindung des Brückenmoleküls **3** an die Nanopartikel soll über elektrostatische Wechselwirkungen den endständigen positiven Aminogruppen mit der negativ geladenen NP-Oberfläche erfolgen.

Als Edelmetall-Kolloid wurden Citrat-stabilisierte AgNP (30 nm) nach der Methode von



Schema 1: Syntheseroute des Bisdendron G1.0 (BD G1.0) **3**.

Steinigeweg hergestellt. [70] In den Experimenten kamen zunächst AgNP zur Anwendung, da diese sich aufgrund ihrer besseren plasmonischen Eigenschaften im Vergleich zu AuNP vorteilhafter für die Verwendung zur Einzelmolekül-Detektion eignen. Für die molekulare Verbrückung wurden jeweils 0.5 mL des hergestellten Kolloids mit 0.5 mL Wasser verdünnt und mit jeweils unterschiedlichen Mengen einer wässrigen 1.9 μM BD G1.0-Lösung unter Rühren versetzt (10 μL Schritten von 10 μL bis 200 μL) und im Anschluss ein Extinktionsspektrum gemessen (Messung erfolgte ca. 15 Minuten nach der Inkubation und nach einer Nacht, welches dem Erreichen eines annähernd stationären Zustandes entspricht). Ab einer zugegebenen Menge von 90 μL war eine sichtbare Änderung im Extinktionsspektrum zu beobachten. Oberhalb von 110 μL kam es zur irreversiblen Aggregation der NP. Daher wurde das Experiment in einem Bereich zwischen 85 μL und 110 μL wiederholt und der Bereich zwischen 85 μL und 90 μL genauer untersucht. In Abb. 14 sind die, auf die transversale Plasmonenbande normierten, Extinktionsspektren abgebildet. Ab einer Zugabe von 85 μL kam es zu einer orangen Färbung der Suspension, welche sich bei hinzugeben von größeren Volumina von rot bis hin zu blau änderte. Im Extinktionsspektrum ist ab 88 μL der 1.9 μM BD G1.0-Lösung die stärkste Ausprägung einer longitudinalen Plasmonenkopplungsbande zu beobachten. Bei der Zugabe größerer Mengen an BD kommt es zu einer weiteren Rotverschiebung des Peaks, welches ein Anzeichen für die Bildung größerer Cluster bzw. Aggregation ist. Die zugegebene Stoffmenge an BD G1.0 ist in diesem Fall um bis um den Faktor 10^7 - 10^8 höher als die über die NP-Konzentration berechnete Menge an Molekülen, die nötig ist, um zwei Nanopartikel über ein Brückenmolekül zu verbinden.

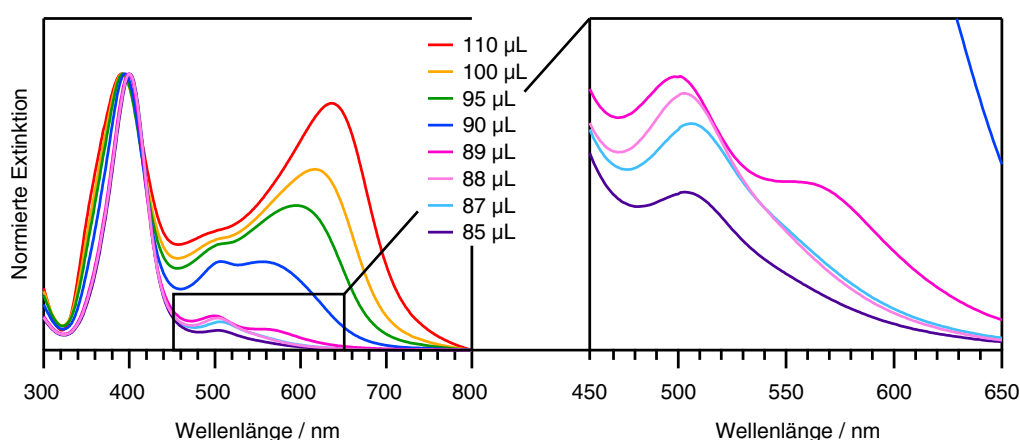
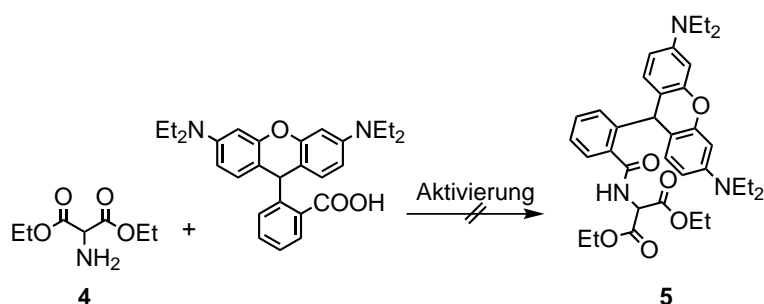


Abb. 14: Normierte Extinktionsspektren von Citrat-stabilisierten AgNP (30 nm) nach Zugabe unterschiedlicher Volumina einer 1.9 μM BD G1.0-Lösung. Vergrößerung des Extinktionsspektrums im Bereich zwischen 450 nm und 650 nm.

Somit kann davon ausgegangen werden, dass mehr als ein Brückenmolekül pro zwei NP nötig ist, um diese zu verknüpfen. Des Weiteren ist aufgrund der geringen Intensität der longitudinalen Plasmonenbande im Verhältnis zur transversalen darauf zu schließen, dass sich nur eine geringe Menge an Dimeren gebildet hat. Um die Anbindung des Brückenmoleküls an die NP-Oberfläche zu erhöhen, sollten die endständigen Aminogruppen durch Thiole ersetzt werden.

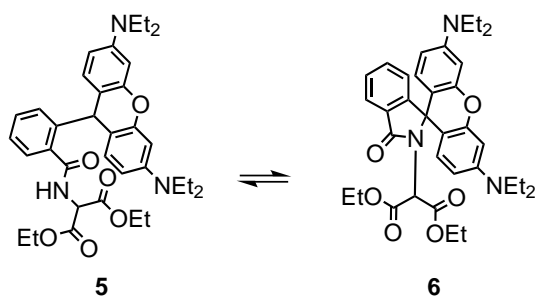
4.1.3 Rhodamin-Malonat-Kopplung

Parallel zu den oben gezeigten Experimenten wurde die Kopplung des Raman-Farbstoffs mit dem Grundbaustein des Brückenmoleküls untersucht. Als Farbstoff wurde Rhodamin B gewählt, da bei diesem, im Vergleich zu dem üblicherweise für die SERS-Anwendung verwendeten Rhodamin 6G, die Aminogruppen durch jeweils einen weiteren Ethylrest sterisch abgeschirmt sind. Daher kann es bei der Funktionalisierung mit dem Brückenmolekül nicht zu unerwünschten Nebenreaktionen kommen. Das Absorptionsmaximum des Farbstoffs liegt zwischen 540 nm und 555 nm, das etwas ins Rot verschoben ist im Vergleich zum Absorptionsmaximum von Rhodamin 6G, welches jedoch keinen negativen Einfluss auf die spätere Anwendung hat. Hierzu sollte zunächst Rhodamin B an Diethylaminomalonat **4** gekoppelt werden. Dies kann durch eine einfache Amid-Bindung zwischen der freien Carbonsäure des Rhodamins und der Aminogruppe des Malonats erfolgen.



Schema 2: Umsetzung von Aminomalonat mit Rhodamin B.

Anstelle der gesuchten Verbindung **5** wurde jedoch ein anderes Reaktionsprodukt in dem Kernspinresonanz- (NMR) sowie im Massenspektrum (MS) gefunden. Bei der Kopplung des primären Amins mit der freien Carbonsäuregruppe kommt es zur Bildung des Lactams **6**, wodurch das Chromophor zerstört wird. [76]

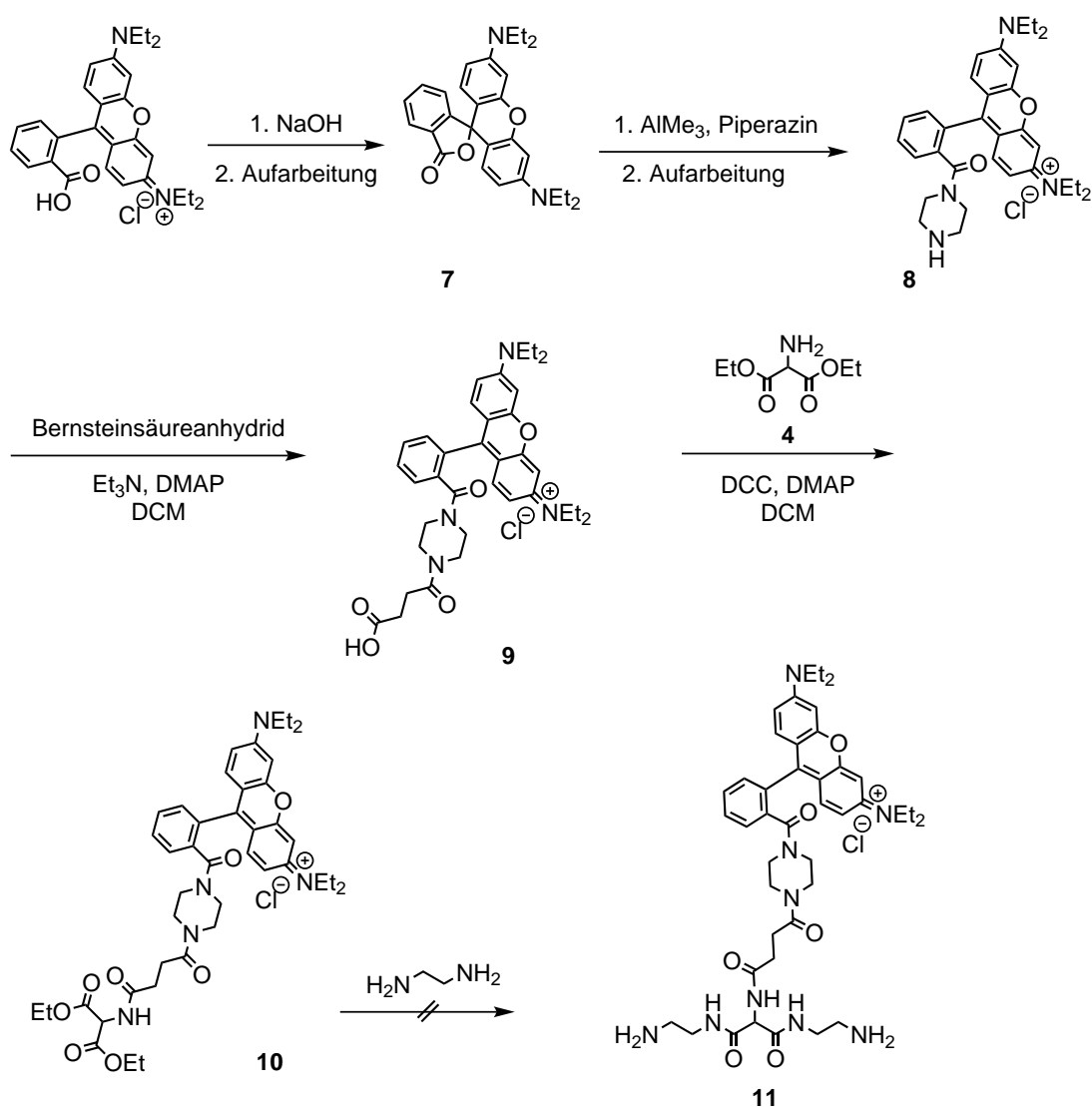


Schema 3: Umlagerung des Amids **5** zum Lactam **6**.

Um dies zu umgehen, ist es nötig, die freie Carbonsäure mit einem sekundären Amin zu funktionalisieren. Die Reaktion zum Lactam wird so durch die Bildung eines tertiären Amids **8** unterdrückt. Nguyen *et al.* [76] zeigten, dass dies über die Kopplung mit Piperazin erfolgen kann. An die zweite Aminogruppe kann dann eine weitere Funktionalisierung durch Bernsteinsäure erfolgen. Wie in Schema 4 gezeigt, erhält man eine neue freie Carbonsäurefunktion, welche an Aminogruppe des Diethylaminomalonats **4** gebunden werden kann.

Im ersten Schritt erfolgt die Deprotonierung des RB zur RB Base **7**. Durch die Umsetzung mit Piperazin kommt es zur Öffnung des Lactons, welche durch die Lewis-Säure Trimethylaluminium

katalysiert wird und zur Bildung des tertiären Amids **8** führt. Anschließend erfolgte hierbei eine Kopplung von Bernsteinsäureanhydrid an die freie sekundäre Aminogruppe des Piperazinringes **9**. Die Umsetzung zum Bernsteinsäure RB Piperazinamid **10** konnte in einer guten Ausbeute (99 %) realisiert werden. Im Anschluss wurden über eine Kupplungsreaktion mit DCC und DMAP das Diethylaminomalonat **4** an die freie Carbonsäure des RB-Derivates **9** konjugiert. Das Produkt der Reaktion **10** konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden, wobei keine vollständige Umsetzung erfolgte. Um mehr Produkt **10** zu erhalten, wurde das Rohprodukt-Gemisch mit weiterem DCC und DMAP umgesetzt. Jedoch waren anschließend sowohl Edukt **9** als auch Produkt **10** im Massenspektrum nachweisbar. Zur weiteren Aufarbeitung wurden Lösungsmitteltests und eine säulenchromatographische Trennung (Lösemittelgradient bis zu einer Zusammensetzung von MeOH/MeCN (6:4)) durchgeführt.



Schema 4: Synthese des Bernsteinsäure-Malonat Rhodamin B Piperazinamid **10** und anschließende Umsetzung mit Ethylendiamin.

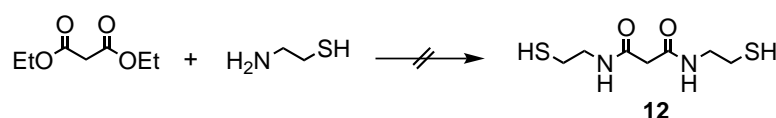
Es zeigt sich, dass es durch die Reaktion des bereits hergestellten Malonat-Adduktes **10** mit Ethylendiamin zum Rhodamin B-Bisdendron G0.0 **11** zur Unterbrechung des Chromophors führt. Um den hier vorgestellten Ansatz weiter zu verfolgen, müssen die Reaktionsbedingungen angepasst werden oder ein anderer Weg gefunden werden, um das RB auf dem bisdendritischen

Brückenmolekül in einem späterem Reaktionsschritt zu verbinden. Ein weitere Möglichkeit besteht darin, das Brückenmolekül und das Amino-funktionalisierte RB erst am Ende miteinander zu koppeln, wobei die terminalen Aminogruppen des Malonats zu schützen wären.

4.1.4 Thiol-funktionalisiertes Brückenmolekül

Zur besseren Anbindung des Brückenmoleküls an die Edelmetall-NP-Oberfläche sollten die zuvor verwendeten Aminogruppen durch Thiole substituiert werden. Des Weiteren wurde die Kettenlänge des Moleküls reduziert, um einen geringeren Abstand zwischen den beiden NP in einem Dimer zu erhalten, wodurch eine größere Felderhöhung und daraus eine höhere Verstärkung des SERS-Signals resultiert.

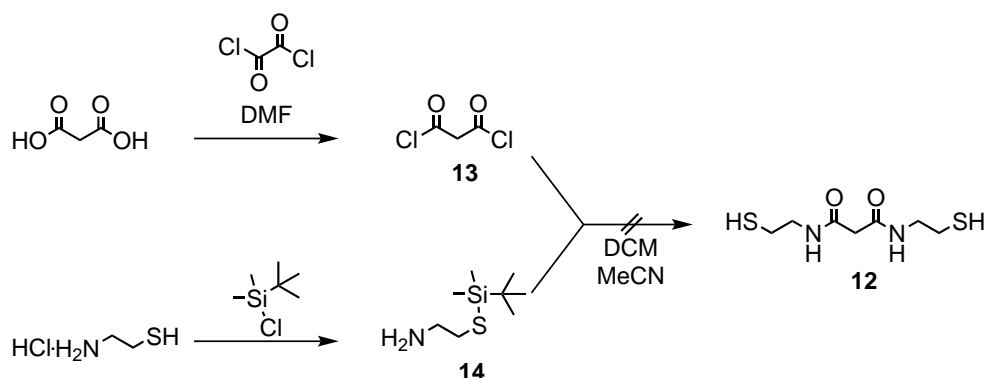
Durch Substitution des Ethylendiamins durch Cysteamin, bei dem eine Aminogruppe durch ein Thiol ersetzt ist, wurde die in Schema 5 gezeigte Reaktion durchgeführt. Da die Thiolgruppen ebenfalls wie die Aminogruppen nucleophil an den Carbonylkohlenstoff des Malonats angreifen, konnte das gewünschte Produkt **12** nicht isoliert werden.



Schema 5: Umsetzung von Diethylmalonat mit Cysteamin.

Daher müssen die Thiole zunächst durch geeignete Schutzgruppen geschützt, die Amidkopplung mit der Malonsäure durchgeführt und anschließend wieder entschützt werden. Thiole lassen sich durch *tert*-Butyldimethylsilylchlorid schützen.^[77] Zur besseren Anbindung der Aminogruppe des Cysteamins wurde anstelle des Diethylmalonats Malonsäure mit Oxalylchlorid in Gegenwart von DMF zu Malonsäuredichlorid **13** umgesetzt. DMF und Oxalylchlorid bilden dabei das aktive Vilsmeier-Haack-Reagenz, welches mit der Malonsäure zum Säuredichlorid **13** reagiert.

Dieses wurde mit dem *tert*-Butyldimethylsilyl-geschützten Cysteamin **14** umgesetzt, nach wässriger Aufarbeitung sollte das Dithiol **12** isoliert werden^[78], welches jedoch nicht möglich war. Es kam zur Zersetzung der Reaktanten und es konnte lediglich Butanol im NMR- und MS-Spektrum nachgewiesen werden. Auch eine Wiederholung der Reaktion führte zum selben Ergebnis. Daher wurde die Schützung des Cysteamins mittels Silylschutzgruppen nicht weiter



Schema 6: Synthese des Malonsäuredicysteaminthiol **12** mittels Thiol-Silyl-Schützung.

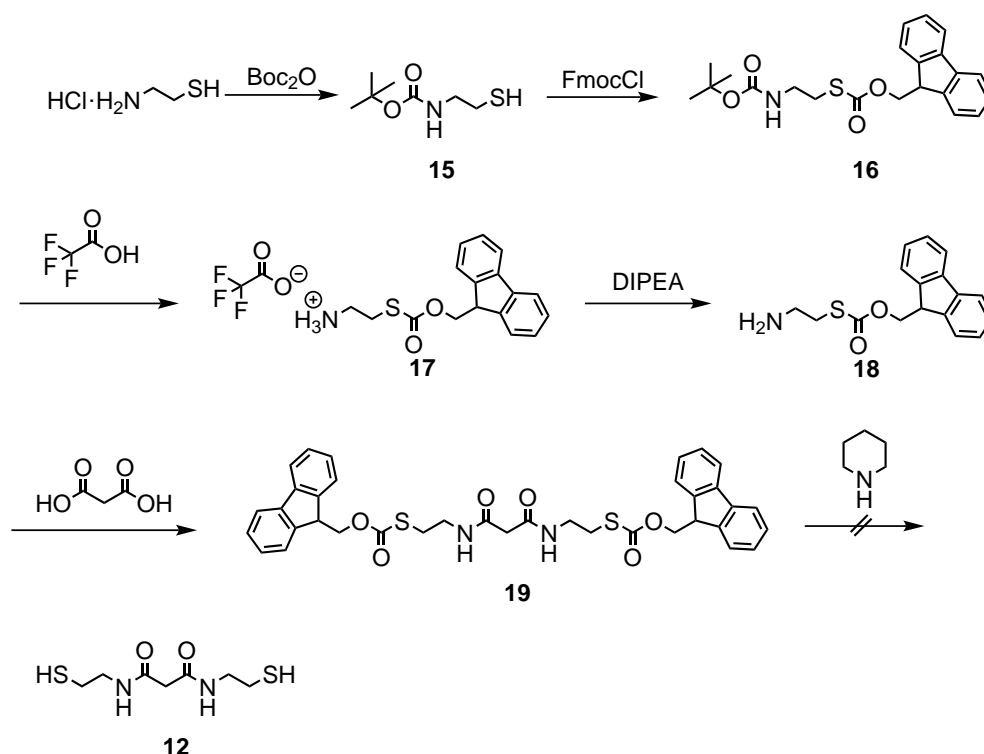
verfolgt.

Eine Alternative stellt die orthogonale Schützung von Cysteamin durch Carbamate dar.^[79] Carbamatschutzgruppen finden häufig Anwendung in der Peptidsynthese. Durch das gezielte Einstellen der Reaktionsbedingungen können bestimmte Gruppen selektiv geschützt bzw. entschützt werden.^[80] Schema 7 zeigt die Schützung des Cysteamins. Im ersten Schritt wurde Cysteamin Hydrochlorid mit Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O) umgesetzt und so selektiv die Aminogruppe geschützt. Anschließend erfolgt die Reaktion von Fluorenylmethyloxycarbonylchlorid (FmocCl) mit der Thiolgruppe, welche somit für weitere Reaktionen blockiert war. Es wurde nun die Boc-Schutzgruppe durch Tetrafluoressigsäure (TFA) abgespalten, das TFA-Salz des Fmoc-geschützten Cysteamins isoliert und durch Umsetzen mit Diisopropylamin (DIPEA) deprotoniert. Das freie Amin **18** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung (Cyclohexan/EtOAc, Gradient 0-30 %) und mit einer Ausbeute von 71 % isoliert werden. Dieses wurde mit Malonsäure, dem Kopplungsreagenz Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) und DIPEA umgesetzt. Hierbei konnte das Produkt **19** nicht erhalten werden. Eine Umsetzung mit DCC und DMAP lieferte nach säulenchromatographischer Reinigung die Verbindung **19**. Jedoch konnte nach der Reaktion, trotz mehrmaliger Reinigung, das entstandene DCC-Harnstoffderivat nicht vollständig entfernt werden. Anschließend wurde die Entschützung der Fmoc-Gruppe mit Piperidin durchgeführt, wobei das gewünschte Produkt **12** nicht isoliert werden konnte. Durch die gemessenen MS- und NMR-Daten kann davon ausgegangen werden, dass es nur ein Fmoc-geschützten Cysteamin an die Malonsäure angebunden hat. Durch die anschließende Umsetzung mit Piperidin kommt es zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe, sowie zur Decarboxylierung der bisher nicht reagierenden Carbonsäuregruppe der Malonsäure, was zur Bildung eines Disulfids führt. Die Strukturaufklärung der isolierten Verbindung ergab, dass es zur Bildung von *N,N'*-(Disulfandiylbis(ethan-2,1-diyl))diacetamid gekommen ist. Eine erneute Umsetzung der Malonsäure mit einem deutlichen Überschuss an Fmoc-geschützten Cysteamin mit DCC und DMAP führte zum selben Ergebnis.

Die hier gezeigte Reaktionsroute wurde aufgrund der geschilderten Problematik nicht weiter verfolgt. Anstelle der Malonsäure ist die Anwendung von Alkyldithiolen vorteilhafter, da die SAM aus Alkyldithiolen eine hohe Stabilität aufweisen. Wie in Kapitel 4.2 gezeigt, ist es so möglich, AuNP gezielt zu Dimeren zu koppeln. Daher sollten zur Immobilisierung eines Raman-Farbstoffmoleküls Routen zur Synthese auf der Basis eines funktionalisierbaren Alkyldithiol erarbeitet werden.

4.1.5 Synthese von Rhodamin B Isotopologen

Der Nachweis von einzelnen Molekülen mittels SERS ist ein wichtiger Teilbereich für das fundamentale Verständnis des Effekts und kann Aussagen über die lokale Umgebung, sowie der daraus resultierenden Beeinflussung des Schwingungsspektrums geben.^[17] Eine weitverbreitete Methode ist hierbei der sogenannte Bi-Analyt-Ansatz. In diesem werden zwei unterschiedliche Raman-Farbstoffe in sehr hohen Verdünnungen auf ein plasmonisch aktives Substrat gegeben, so dass sich statistisch nur ein Molekül im *hot spot* der Nanostruktur befindet. Dieses Substrat wird mittels eines Raman-Mikroskops abgerastert und die detektierten Spektren statistisch ausgewertet und die Wahrscheinlichkeit bestimmt, wann nur ein einzelnes Farbstoffmolekül vorliegt. Aufgrund der unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften der

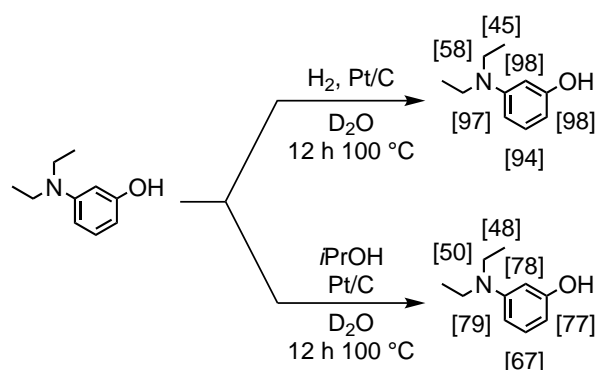


Schema 7: Synthese des Malonsäuredicysteaminthiol **12**.

verwendeten Farbstoffe, kann einer favorisiert vorliegen. Um dies auszuschließen, verwendeten van Duyne *et al.* Isotopologen von nur einem Farbstoff (Rhodamin 6G, R6G).^[73] Hierbei sind ein Teil der Wasserstoffatome durch Deuterium ersetzt, wodurch es zu einer Verschiebung der entsprechenden Schwingungsbanden im Raman-Spektrum führt. Durch den Isotopenaustausch kommt es nicht zu einer Beeinflussung des Adsorptionsverhaltens und des Streuquerschnittes des Farbstoffs.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten Isotopologen eines Raman-Farbstoffs hergestellt werden, welche sich leicht an ein Brückenmolekül oder Oberflächen koppeln lassen. Als Ausgangsmolekül wurde wie bei den vorhergehenden Experimenten Rhodamin B (RB) verwendet, welches anschließend am unteren Phenylring mit einer Isothiocyanidgruppe (ITC-Gruppe) funktionalisiert werden sollte. Diese ermöglicht eine einfache Kopplung an Aminogruppen.^[81]

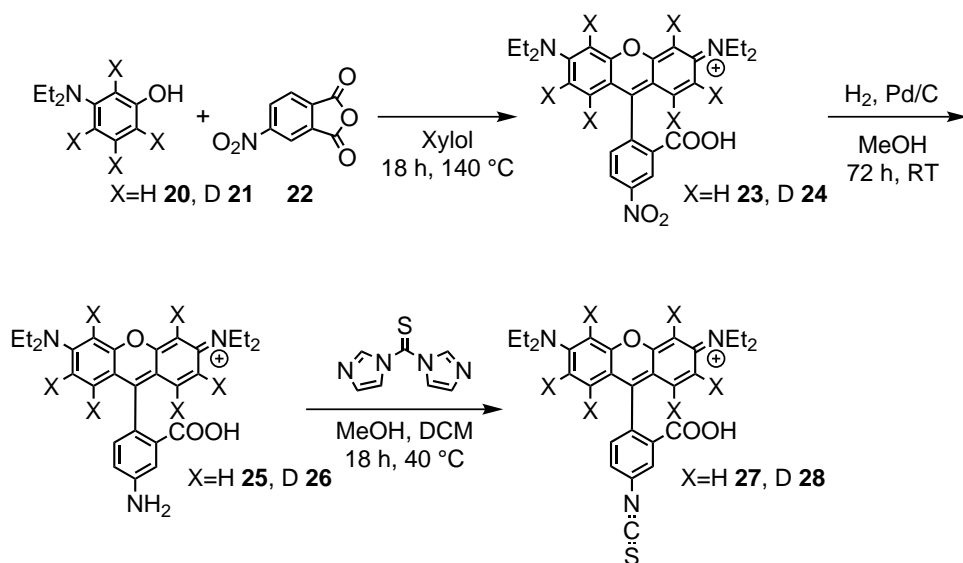
Der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium (H-D-Austausch) in organischen Verbindungen wird vor allem in der Aufklärung von Struktur von Verbindungen, biologischen Materialien oder Reaktionsmechanismen eingesetzt.^[82–84] Der H-D-Austausch kann durch die Substitution von Wasserstoff durch Deuterium in der Nähe von Heteroatomen an CH-aciden Positionen im Molekül erfolgen. Hierbei gelingt der Austausch durch den Einsatz von Deuteriumoxid, welches im Überschuss eingesetzt wird. Durch den kinetischen Isotopeneffekt wird dadurch das Gleichgewicht auf die Seite der gewünschten deuterierten Verbindung verlagert. Die meisten C-H-Bindungen weisen jedoch eine geringe CH-Acidität auf, weswegen eine Aktivierung der Bindung nötig ist. Diese kann über eine pH-abhängige Katalyse oder Metallkatalysatoren erfolgen. Die Metallkatalyse kann dabei homogen oder heterogen erfolgen.^[84] Zur Deuterierung der hier hergestellten Verbindungen wurde die heterogene Metallkatalyse verwendet. Hierbei kann der Katalysator einfach nach der Reaktion durch Filtration vom Produkt abgetrennt werden.



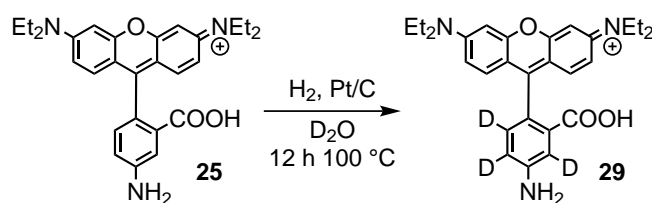
Schema 8: Deuterierung von 3-Diethylaminophenol mit (oben) und ohne (unten) Wasserstoffgas. Die Zahl in eckigen Klammern gibt den prozentualen Anteil von Deuterium wieder [% D].

Als Deuteriumquelle wurde Deuteriumoxid (D_2O) genutzt, das mit Wasserstoff auf einem Platin-Katalysator zum aktiven Deuterium reagiert. Es kommt zur Chemisorption von Wasserstoff an das Metall, wodurch ein Wasserstoff-Platin-Komplex entsteht. Des Weiteren adsorbiert D_2O auf der Oberfläche, zersetzt sich zu D und OD und wird als HOD wieder desorbiert. Die zu deuterierende Verbindung adsorbiert ebenfalls auf der Metalloberfläche und der H-D-Austausch erfolgt durch das Metall-aktivierte Deuterium. Je nach eingesetztem Metall kann selektiv bei Aryl- (Platin) oder Alkylverbindungen (Palladium) ein H-D-Austausch erfolgen. Alternativ ist auch der H-D-Austausch über eine katalytische Transfer-Hydrierung möglich. Hierbei wird statt Wasserstoffgas Isopropanol verwendet, welches an einem Platin-Katalysator zu Aceton oxidiert und dabei der Wasserstoff der Hydroxygruppe zum Wasserstoff-Molekül reduziert wird. Somit werden *in situ* nur geringe Wasserstoffmengen erzeugt. [85]

Für die Synthese von deuteriertem RB-ITC wurden die zur Herstellung benötigten Grundbausteine, 3-Diethylaminophenol und 3-Nitrophthalsäureanhydrid, deuteriert. Es sollte hierbei ein Austausch der arylischen Wasserstoffe erreicht werden, da sich diese am Chromophor des Raman-Farbstoffs befinden und somit deutlicher im Schwingungsspektrum sichtbar sind. Zur Deuterierung von



Schema 9: Synthese von der Rhodamin B-Isothiocyanat (RB-ITC) Isotopologen d_0 (27) und d_6 (28).



Schema 10: Deuterierung von Amino-Rhodamin B zum d₃-Amino-Rhodamin B.

3-Diethylaminophenol wurden beide Methoden verwendet. Die deuterierten Verbindungen wurden mittels ¹H- und ²H-NMR charakterisiert und durch stöchiometrisch eingesetzte Mengen an Dioxan als interner NMR-Standard die ausgetauschte Menge an Deuterium bestimmt (Spektren siehe Anhang). In Schema 8 ist die Effektivität des H-D-Austauschs über die beiden Methoden dargestellt. Über die Methode mit Wasserstoffgas konnten 97 % der arylischen Wasserstoffe durch Deuterium ersetzt werden. Hingegen lieferte die Methode mit dem *in situ* erzeugten Wasserstoff nur eine Umsetzung zu etwa 75 %. Auch eine Wiederholung der Deuterierungsreaktion mit der schon umgesetzten Verbindung führt zu keinem höheren Deuterierungsgrad im Molekül.

Die Deuterierung des 3-Nitrophthalsäureanhydrids wurde nur über die Methode mit *i*PrOH und D₂O durchgeführt, da es bei einer direkten Umsetzung mit Wasserstoffgas zum 3-Aminophthalsäureanhydrid führen würde. Diese konnte jedoch auch bei der hier durchgeführten Reaktion beobachtet werden. Des Weiteren kam es zur Hydrolyse der Anhydridgruppe. Es konnte weitergehend kein H-D-Austausch an den arylischen Positionen nachgewiesen werden.

Daher wurde für die Synthese des RB-ITC nur das über die Methode mit Wasserstoff deuterierte 3-Diethylaminophenol verwendet. Die Synthese erfolgte mit und ohne die deuterierte Verbindung. Das d₀-, bzw. d₄-3-Diethylaminophenol wurde mit 3-Nitrophthalsäureanhydrid in Xylol umgesetzt und nach säulenchromatographischer Aufarbeitung 25 % (**23**), bzw. 31 % (**24**) des entsprechenden Nitro-RB isoliert. Dieses wurde mit H₂ und Palladium auf Aktivkohle zum d₀- bzw. d₆-Amino-RB reduziert. Eine weitere Umsetzung der Aminogruppe mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol wurde durchgeführt, jedoch konnte das entsprechende RB-ITC (**27** bzw. **28**) im Rahmen dieser Arbeit nicht isoliert werden.

Weitergehend wurde das synthetisierte d₀-Amino-RB **25** mit Wasserstoff und D₂O durch Platinkatalyse umgesetzt (Schema 10). Aus den ¹H- und ²H-NMR-Spektren kann geschlossen werden, dass nur ein Austausch der Wasserstoffatome am unteren Phenylring stattgefunden hat (Spektren siehe Anhang). Diese sind sterisch leichter zugänglich als die Wasserstoffe am Xanthenring.

4.1.6 Schwingungsspektroskopische Charakterisierung der Amino-Rhodamin B Isotopologen

Die synthetisierten Amino-Rhodamin B Isotopologen (**25**, **26** und **29**) wurden Raman-spektroskopisch untersucht. Ferner wurden DFT-Berechnungen durchgeführt, um die gemessenen Schwingungsbanden den entsprechenden Schwingungen zuzuordnen. In Abb. 15 sind die gemessenen, sowie berechneten Ramanspektren des d₀-, d₃- und d₆-Amino-Rhodamin Bs gezeigt. Die gemessenen Spektren sind auf die intensivste Bande im Bereich um 1646 cm⁻¹ normiert. Im undeuterierten Amino-RB lassen sich die Banden um 1646 cm⁻¹, 1563 cm⁻¹ und 1355 cm⁻¹ den Streckschwingungen des Xanthengerüsts zuordnen. Vergleicht man die Spektren

der Isotopologen d_0 und d_3 mit dem d_6 -Derivat, so ist durch die Deuterierung des Xanthenringes eine Rotverschiebung dieser Bande zu erwarten. Sowohl in den simulierten als auch in den gemessenen Spektren ist dieses zu erkennen. Aufgrund des Masseneffektes kommt es zu einer Verschiebung der Bande um 12 cm^{-1} zu kleineren Wellenzahlen beim d_6 -Isotopolog. Somit liegen die Streckschwingungen des Xanthengerüstes im Raman-Spektrum bei 1636 cm^{-1} , 1551 cm^{-1} und 1348 cm^{-1} .

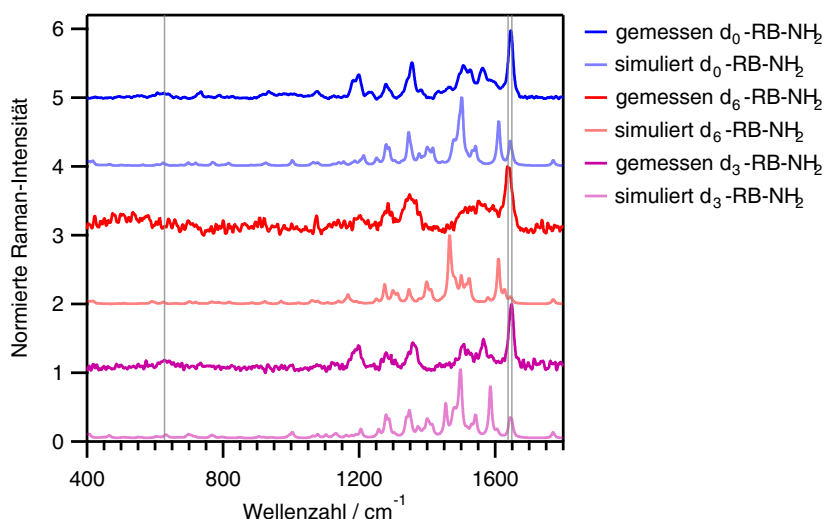


Abb. 15: Normierte Raman-Spektren des d_0 -(d_0 -RB-NH₂), d_3 - (d_3 -RB-NH₂) und des d_6 -Amino-Rhodamin B (d_6 -RB-NH₂) ($\lambda_{ex} = 488\text{ nm}$, $t = 60\text{ sec}$, $P = 2\text{ mW}$) sowie mittels der Dichtefunktionaltheorie (B3LYP/6-31G(d)) simulierte Raman-Spektren der jeweiligen Rhodamine. Die Wellenlänge der simulierten Raman-Spektren wurden mit einem Faktor von 0.97 skaliert

Vergleicht man die simulierten Raman-Spektren miteinander, ist zu erkennen, dass die Bande bei 1646 cm^{-1} keine Verschiebung aufweist. Hingegen kommt es zu einer Rotverschiebung der Schwingungsbande bei 1542 cm^{-1} durch die Deuterierung des Xanthenringes im d_6 -Derivat, welche nicht in den gemessenen Spektren beobachtet werden kann. Zur Diskriminierung zwischen dem d_0 - und d_3 -Isotopologen (in der Literatur d_4) wurde in den SERS-Experimenten die Schwingung des Phenylringes bei 600 cm^{-1} herangezogen. Diese sollte ebenfalls für das deuterierte Amino-RB zu kleineren Wellenzahlen verschoben sein. Hier ist beim d_3 -Amino-Isotopologe eine Bande bei 621 cm^{-1} zu erkennen. Diese ist beim d_3 -Amino-RB zwar schwach, aber dennoch intensiver als beim d_0 - bzw. d_6 -Isotopolog und um 15 cm^{-1} bzw. 19 cm^{-1} zu kleineren Wellenzahlen verschoben. Diese Banden können jedoch in den simulierten Resonanz-Raman-Spektren wider Erwarten nicht detektiert werden.

Die Bande bei 600 cm^{-1} ist einer kombinierten Schwingung des Phenylrings mit dem Xanthengerüst zuzuordnen. In Abb. 16 ist die Schwingungsmode veranschaulicht, welche vor allem in Einzelmolekül-Experimenten zur Diskriminierung zwischen den Isotopologen (d_0 bzw. d_6 und d_3) herangezogen wurde und diese ist eine kombinierte Schwingung des Phenylrings und dem Xanthengerüst.

In der Darstellung des d_0 -Amino-RBs zeigt der mittlere Ring des Xanthengerüstes aus der xy -Ebene in Richtung z -Achse heraus, nach der Schwingung liegt das Xanthengerüst planar in der xy -Ebene. Des Weiteren verschieben sich die beiden markierten Wasserstoffe am Phenylring in z -Richtung, wodurch es zu einer Deformation des Phenylrings kommt.

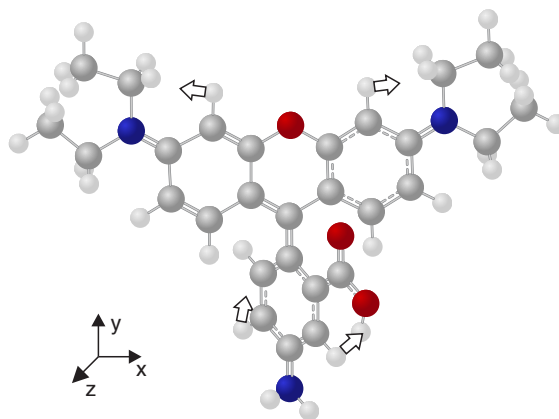


Abb. 16: 2D-Darstellung der kombinierten Schwingungsmode des Xanthengerüsts und des Phenylrings am Beispiel des d_0 -Amino-Rhodamin Bs.

4.1.7 Zusammenfassung und Ausblick

In Kapitel 4.1 wurden Syntheserouten erprobt, um ein mit einem Raman-Farbstoff funktionalisierbares dendritisches Brückenmolekül zu synthetisieren. Dieses sollte die Möglichkeit bieten, gezielt NP zu Dimeren zu verknüpfen, in deren *hot spot* sich abschließend der Raman-Farbstoff befindet, welcher mittels der SERS-Spektroskopie detektiert werden kann. Hierbei konnte das BD G1.0 erfolgreich isoliert werden. Dieses wurde zusammen mit AgNP inkubiert, wobei es jedoch keine gezielte Bildung von Dimeren beobachtbar war. Um die Anbindung an die NP-Oberfläche zu verbessern, wurde versucht, das Brückenmolekül mit terminalen Thiol-Gruppen zu synthetisieren. Dies wurde durch die Kopplung von Malonsäure mit Fmoc-geschütztem Cysteamin erprobt, wobei das synthetisierte Dithiol nicht entschützt werden konnte.

Des Weiteren wurde RB über die Carbonsäuregruppe mit einem Bersteinsäure-Piperazinamid-Rest funktionalisiert, welches die Kopplung zum Brückenmolekül ermöglichen sollte. Durch die hier durchgeführten Reaktionen wurde dieses nicht erreicht.

Weitergehend konnten die drei Isotopologen d_0 -, d_3 - und d_6 -Amino-RB erfolgreich isoliert werden. Hierzu wurde zum einen 3-Diethylaminophenol, welcher als Grundbaustein für die RB-Synthese dient, und zum anderen beim Nitro-RB erfolgreich ein H-D-Austausch an den Wasserstoffatomen an den jeweiligen Phenylringen durchgeführt. Die hergestellten Isotopologen wurden mittels der Raman-Spektroskopie charakterisiert und mit DFT-Simulationen verglichen. Somit waren diese durch die Rotverschiebung der Schwingungsbanden der Xantenrings im Falle des d_6 -Isotopologen um 12 cm^{-1} und beim d_3 -Derivat der Phenylschwingung um 15 cm^{-1} im Vergleich zum d_0 -Amino-RB diskriminierbar.

Die drei Isotopologen können somit zur Einzelmolekül-Detektion über einen Tri-Analyt-Ansatz eingesetzt werden. Durch eine weitere, bisher nicht gelungene Modifizierung der Amino-Gruppe zum Isothiocyanat kann eine bessere Anbindung an Edelmetall-NP erfolgen oder gezielt die Kopplung an Amine als Thioharnstoff erfolgen.

4.2 Herstellung von SERS-aktiven AuNP-Dimeren

4.2.1 Einleitung und Aufgabenstellung

SERS-aktive Dimere stellen optimale Marker für die Nanodiagnostik dar. Bisher konnten diese Dimere jedoch nur durch die unkontrollierte Aggregation von NP, welche mit Raman-aktiven Molekülen funktionalisiert wurden, in größeren Mengen hergestellt werden. Eine Möglichkeit zur kontrollierten Herstellung von plasmonisch-aktiven Dimeren bietet die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode.^[19] Hierbei werden NP auf ein Substrat adsorbiert, mit einem Alkyldithiol-SAM funktionalisiert und anschließend mit einem zweiten NP inkubiert, der auf der SAM bindet. Alkyldithiole weisen jedoch einen sehr geringen Raman-Streuquerschnitt auf, wodurch sie sich nicht zur Detektion mittels SERS eignen. *Para*-Aryldithiole besitzen hingegen einen hohen Streuquerschnitt und bieten die Voraussetzung, ähnlich zu den Alkylthiolen, zwei NP miteinander zu verknüpfen. Es ist bekannt, dass diese *para*-Aryldithiole SAMs auf Oberflächen der AuNP ausbilden.^[86–91] Diese finden Anwendung in der molekularen Elektronik, Erforschung von quantenmechanischen Phänomenen oder oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie.

Das Ziel ist es, Aryldithiol-verbrückte AuNP-Dimere in hohen Ausbeuten herzustellen, welche als SERS-Marker in späteren SERS-basierten Bildgebungsanwendungen genutzt werden können. Hierzu sollen die Dimere mittels der SERS-Spektroskopie auf Ensemble- und Einzelpartikelniveau charakterisiert werden.

4.2.2 SAM-Ausbildung von Aryldithiolen auf AuNP

Als Aryldithiole wurden 1,4-Benzylthiol (BDT), Biphenyl-4,4'-dithiol (BPDT) sowie 1,4-Benzylthiol (BDMT) untersucht. Zur Ausbildung von Dimeren ist es nötig, dass sich ein kompletter SAM der Dithiole auf dem ersten AuNP ausbildet. Über die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode wurden zunächst Kern-Satelliten-Strukturen (*core-satellite structures*, CS), bestehend aus einem großen AuNP-Kern (50 nm) und mehreren kleinen AuNP-Satelliten (14 nm), hergestellt. Über die Anzahl und die Homogenität der Bedeckung des Kerns mit Satellitenpartikel lässt sich auf die Vollständigkeit der Ausbildung einer Monolage der Dithiolmoleküle schließen.

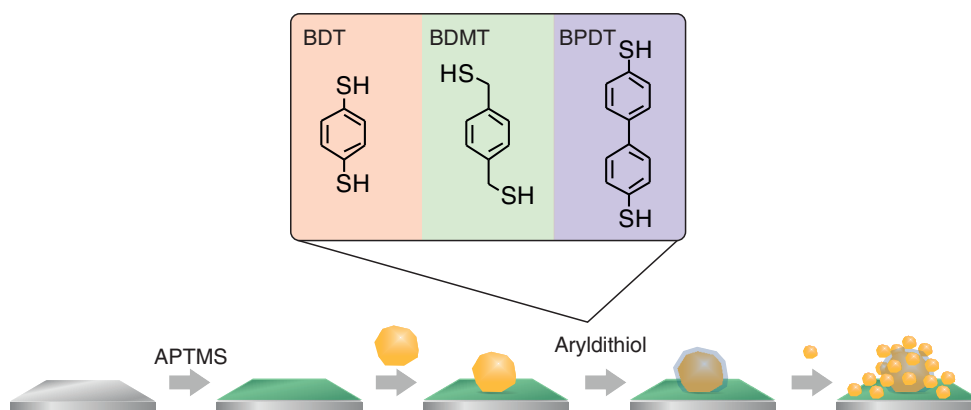


Abb. 17: Assemblierung von Kern-Satelliten-Strukturen. Es erfolgt die Adsorption von Citrat-stabilisierten Kern-AuNP (50 nm) auf eine mit Aminogruppen funktionalisierte Glasoberfläche. Die NP werden mit einem Aryldithiol (BDT, BDMT oder BPDT) funktionalisiert, an dem anschließend die kleinen Citrat-stabilisierten Satelliten-AuNP binden können.

Im ersten Schritt wurde hierzu, wie in Abb.17 gezeigt, eine Glasoberfläche mit (3-Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) funktionalisiert. An der Oberfläche des Glases sind so terminale Aminogruppen gebunden, woran die Citrat-stabilisierten Kern-AuNP (50 nm) elektrostatisch adsorbieren. Anschließend wird eine Monolage aus Aryldithiolen (BDT, BDMT oder BPDT) auf dem Kernpartikel ausgebildet, an dem die kleinen Citrat-stabilisierten AuNP (14 nm) binden können. Diese adsorbieren ebenfalls wie der erste NP auch auf der Amino-funktionalisierten Glasoberfläche.

In den Extinktionsspektren (Abb. 18, oben links) ist zu erkennen, dass es durch die Anbindung der Satelliten- an den Kern-AuNP zur Ausbildung einer Schulterbande oberhalb von 600 nm kommt. Diese ist am ausgeprägtestem bei den mit BDMT assemblierten CS-Strukturen. REM-Aufnahmen der unterschiedlichen Proben zeigen das gleiche Ergebnis. Bei BPDT sind nur wenig bis keine Satelliten-NP auf dem ersten NP zu finden. Die mit BDT funktionalisierten CS-Strukturen tragen nur eine geringe Anzahl an kleinen NP, wohingegen die mit BDMT inkubierten NP vollständig mit den Satellitenpartikeln bedeckt sind.

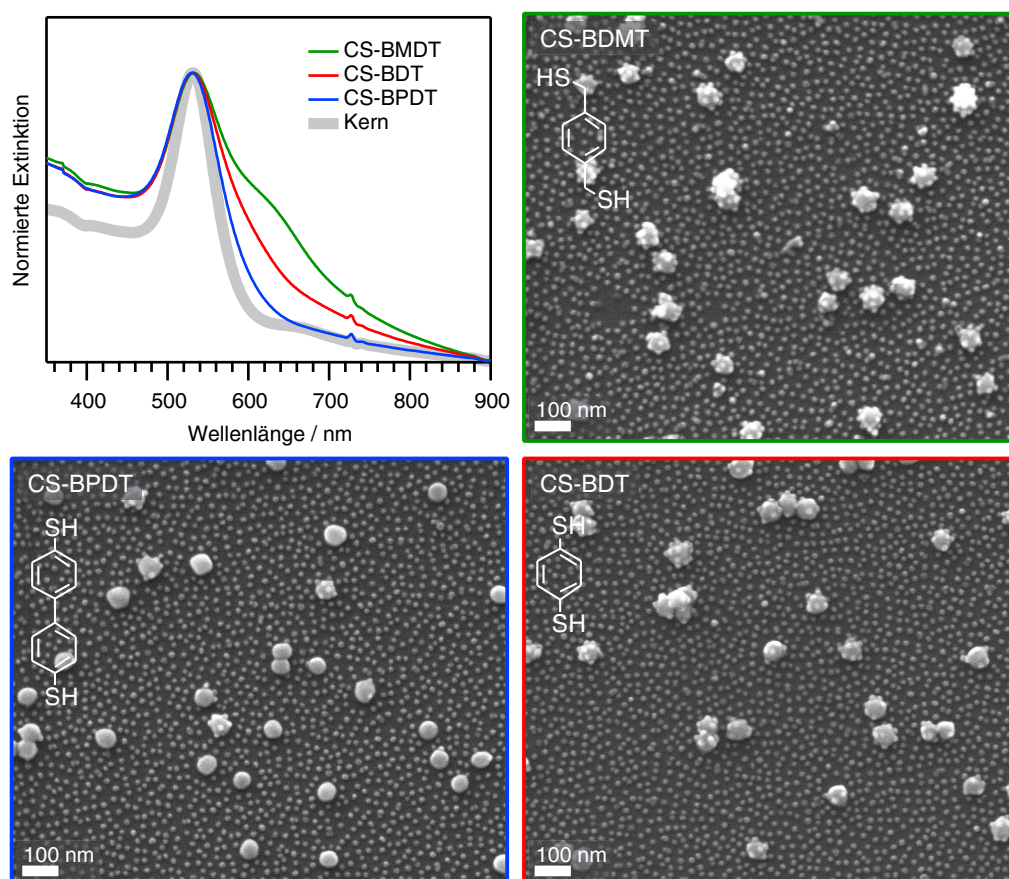


Abb. 18: Normierte Extinktionsspektren des Kern-NPs und der mit BDMT, BDT sowie BPDT verknüpften Kern-Satelliten-Strukturen (CS) (oben links). REM-Aufnahmen der entsprechenden CS-funktionalisierten Glassubstrate.

Somit kann darauf geschlossen werden, dass beide *para*-Aryldithiole (BDT und BPDT) gar nicht bis mäßig unter den hier verwendeten Bedingungen SAMs auf NP ausbilden. Wohingegen es durch die Einführungen einer Methylengruppe zwischen Thiol und Phenylring zu einer optimalen Anbindung des Thiols auf die NP-Oberfläche kommt. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen von Zhang *et al.*, welche versuchten, NP in Dispersion mit einer Monolage aus *para*-Aryldithiolen zu verknüpfen. [92]

4.2.3 Assemblierung und Charakterisierung von BDMT-verbrückten AuNP-Dimeren

Anschließend wurde die Möglichkeit untersucht Dimere auszubilden, die über BDMT gekoppelt sind. Als Referenz wurden C8-verbrückte Dimere hergestellt. Wie in Abb. 19 (oben links) gezeigt, wurden analog zu den CS-Strukturen ein Glassubstrat mit APTMS funktionalisiert und im Anschluss mit einem ersten AuNP (25 nm) inkubiert. Um eine spätere Anbindung der zweiten AuNP auf die Oberfläche zu verhindern, wurden die Aminogruppen rund um den ersten NP entfernt. Durch die Behandlung der Glasoberfläche mit NaOH werden die Siloxanbindungen hydrolysiert. Unterhalb des NP läuft die Desilanisierungs-Reaktion durch die sterische Hinderung nur verlangsamt ab, sodass durch die geeignete Wahl der Reaktionsdauer nur die freie Oberfläche desilanisiert werden kann. [19] Der NP wird danach mit dem Dithiol-Molekül funktionalisiert, mit dem zweiten AuNP (25 nm) inkubiert und die freie NP-Oberfläche mit 11-Mercaptoundecansäure (MUA) geschützt. Durch kurze Behandlung der Probe mit Ultraschall kommt es zur Desorption der Dimere von der Glasoberfläche.

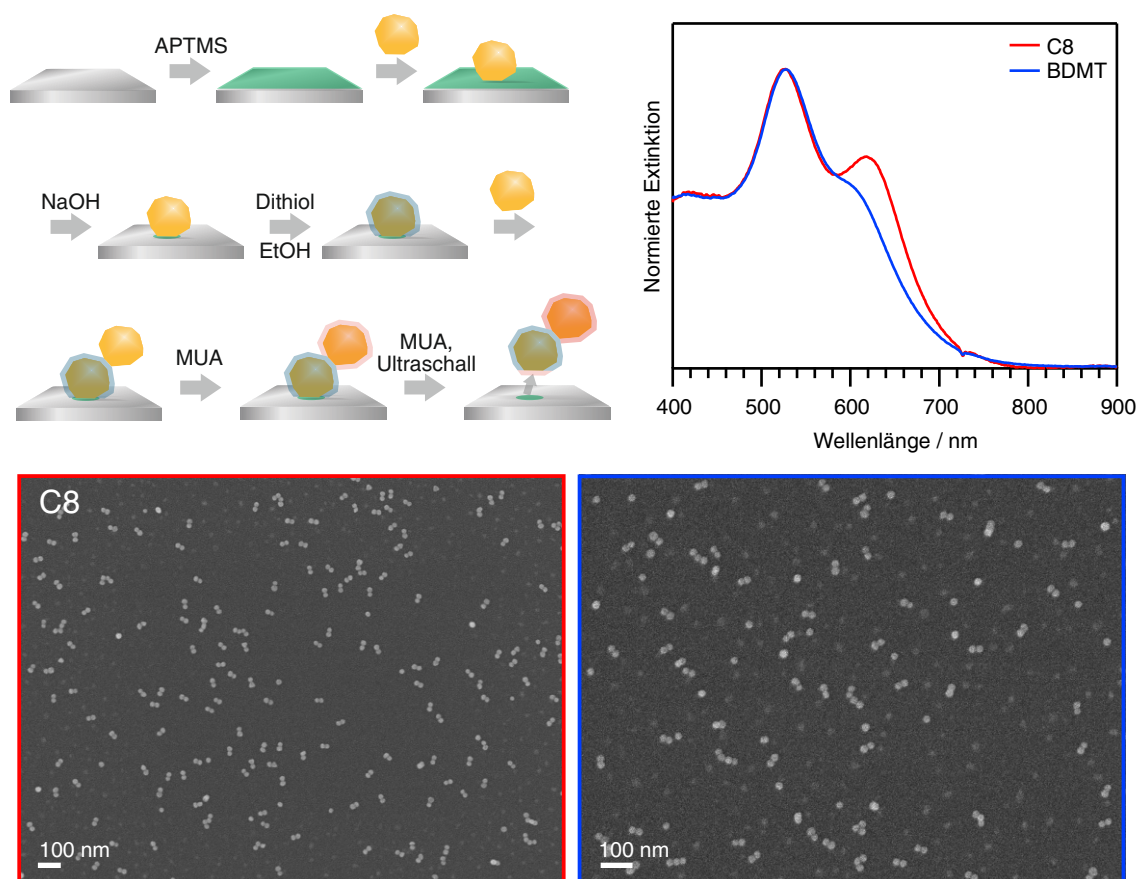


Abb. 19: Herstellungsschema von molekular-verbrückten AuNP-Dimeren über die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode. Im ersten Schritt erfolgt die Funktionalisierung eines Glassubstrats mit APTMS. Auf die so mit Aminogruppen funktionalisierte Glasoberfläche adsorbieren durch elektrostatische Wechselwirkungen Citrat-stabilisierte AuNP (25 nm). Die freien Aminogruppen, welche nicht zum NP binden, werden durch NaOH desilanisiert und die NP mit dem Dithiol (BDMT oder C8) funktionalisiert, an den anschließend einen zweiten Citrat-stabilisierter AuNP (25 nm) binden kann. Um die Dimere zu dispergieren, wird die freie NP-Oberfläche mit MUA geschützt. Durch Ultraschallbehandlung erfolgt die Desorption (oben links). Normierte Extinktionsspektren der BDMT- bzw. C8-verbrückten Dimere auf dem Glassubstrat (oben rechts) sowie REM-Aufnahmen der jeweiligen Proben (unten).

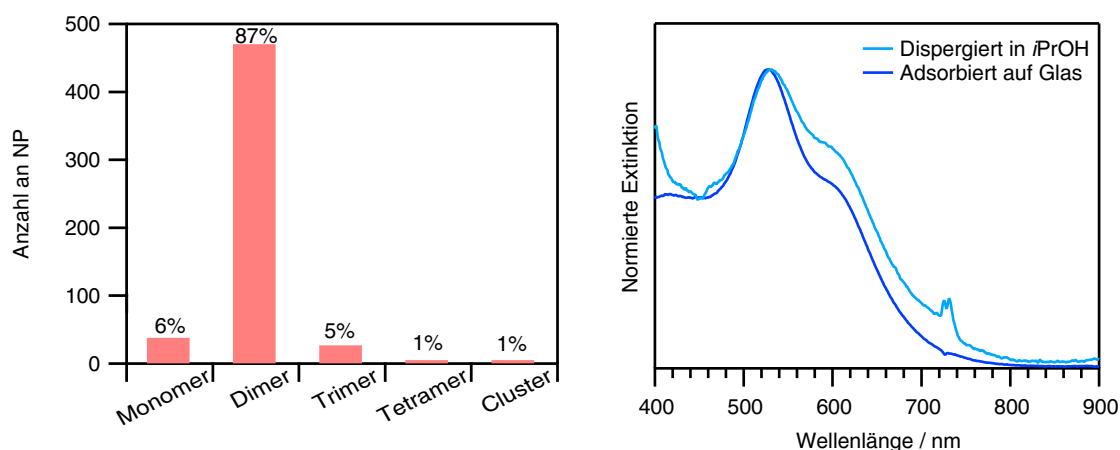


Abb. 20: Histogramm der Ausbeute an BDMT-verbrückten Dimeren. Die Ausbeute wurde durch REM-Aufnahmen mit insgesamt 543 unterschiedlichen Nanostrukturen bestimmt (links). Normierte Extinktionsspektren der BDMT-verbrückten AuNP-Dimere auf dem Glassubstrat sowie in Dispersion nach Desorption in *i*PrOH (rechts).

Die vom Glassubstrat bestimmten Extinktionsspektren (Abb. 19, oben rechts) zeigen, dass es, sowohl für C8, als auch für BDMT, zur Ausbildung von Dimeren gekommen ist. Die C8-verbrückten NP besitzen das Maximum der longitudinalen Plasmonenbande bei 618 nm, welches mit den von Yoon *et al.* ermittelten Ergebnissen ($\lambda_{max} = 626$ nm) gut übereinstimmt. [19] BDMT weist ähnlich zu den CS-Strukturen nur eine Schulterbande bei 604 nm auf. Von der Moleküllänge entspricht BDMT eher 1,6-Hexandithiol, das aufgrund der kürzeren Kettenlänge ausgehend von C8 ins Rote verschoben sein sollte. Durch eine Blauverschiebung der longitudinalen Plasmonenbande kann somit auf das Auftreten von Quanteneffekten, wie das Tunneln von Elektronen über den aromatischen Ring, geschlossen werden. Die REM-Aufnahmen (Abb. 19, unten) der beiden Proben zeigen eine hohe Anzahl an Dimeren und eine homogene Bedeckung der Oberfläche. Die Ausbeute an BDMT-verbrückten Dimeren beträgt hierbei 87 % und entspricht damit nahezu der Ausbeute, die an C8-gekoppelten Dimeren erreicht wurde. [19]

Die BDMT-verbrückten AuNP-Dimere wurden nach der Assemblierung mit MUA stabilisiert und in *iso*-Propanol (*i*PrOH) durch kurze Ultraschallbehandlung (30 s) dispergiert. Bei der Verwendung von EtOH als Dispersionsmittel konnte eine starke Aggregation der Dimere bei der Desorption beobachtet werden, wohingegen diese in *i*PrOH stabil blieben. Das Extinktionsspektrum (Abb. 20) zeigt nach der Desorption der Dimere eine Verbreiterung der Plasmonenbande, welches auf eine leichte Aggregation der Nanostrukturen schließen lässt.

Die dispergierten Dimere wurden auf einen Quarz-Objektträger getropft und über den Einzelpartikel-Dunkelfeld-SERS-Spektroskopie-Aufbau untersucht (zu diesem Zeitpunkt war es nicht möglich, Streuspektren der Nanostrukturen zu messen). Anhand der Dunkelfeld-Streubilder wurden individuelle Nanostrukturen ausgewählt (Abb. 21, rechts unten) und die Einzelpartikel-SERS-Spektren (links unten) gemessen. Ebenso wurden Ensemble-SERS-Messungen der Dimere vor der REM-Messung (Abb. 19, unten rechts) durchgeführt. Zum Vergleich wurde das Raman-Spektrum von BDMT gemessen und über die Dichtefunktionaltheorie (DFT) simuliert. Die gezeigten SERS-Spektren zeigen zwei prominente Banden bei 1160 cm^{-1} und 1575 cm^{-1} . Mithilfe der DFT-Rechnung lassen sich diese Schwingungen, welche im Raman-Spektrum 20 cm^{-1} bzw. 25 cm^{-1} blauverschoben sind, den

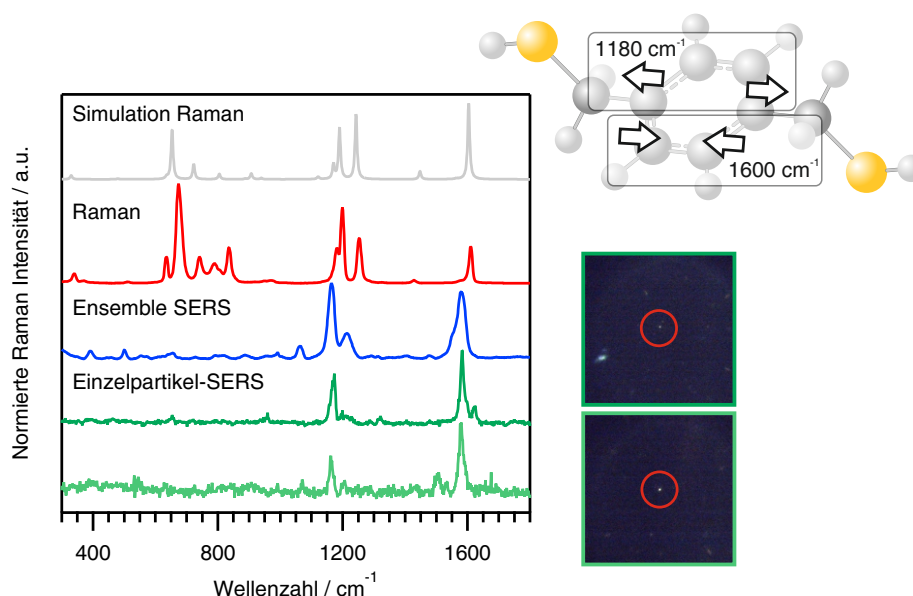


Abb. 21: Berechnetes und gemessenes Raman-Spektren von BDMT, sowie Ensemble- und Einzelpartikel-SERS-Spektren von BDMT-verbrückten Dimeren. Die Wellenlänge des über die Dichtefunktionaltheorie (B3LYP/6-311++G(d,p)) simulierten Raman-Spektrums wurden mit einem Faktor von 0.97 skaliert. Die Strukturformel zeigt schematisch die in den SERS-Spektren dominanten C-C-Ringvalenzschwingungen bei 1180 cm^{-1} und 1600 cm^{-1} . Das simulierte Raman-Spektrum, Ensemble-SERS-Spektrum ($\lambda = 632.8\text{ nm}$, $P = 2\text{ mW}$, $3 \times 10\text{ s}$, $20\times$ Objektiv), sowie die Einzelpartikel-SERS-Spektren ($\lambda = 632.8\text{ nm}$, $P = 225\text{ }\mu\text{W}$, 10 s , $100\times$ Objektiv) sind auf die Bande bei 1600 cm^{-1} normiert. Das Raman-Spektrum ($\lambda = 632.8\text{ nm}$, $P = 14\text{ mW}$, $3 \times 10\text{ s}$, $20\times$ Objektiv) hingegen auf die Bande bei 1180 cm^{-1} . Des Weiteren sind die entsprechenden Dunkelfeld-Streubilder der Nanostrukturen zu den Einzelpartikel-SERS-Spektren gezeigt.

C-C-Valenzschwingungen des Phenylrings zuordnen. Alle weiteren Banden erfahren nur eine geringe bis keine Verstärkung durch die Nanostruktur.

Das gute Signal-zu-Rauschen-Verhältnis in den Einzelpartikel-SERS-Messungen bei relativ kurzer Integrationszeit und Laserleistung deutet darauf hin, dass die Dimere über das Dithiol assembliert wurden. Es konnten somit gezielt Dimere mit einem aromatischen Dithiol assembliert, dispergiert und die Einzelpartikel-SERS-Spektren des Linkers von individuellen Nanostrukturen detektiert werden.

4.2.4 Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, mit dem Aryldithiol BDMT AuNP (25 nm) über die schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode gezielt Dimere in großen Ausbeuten herzustellen. Die Dimere wurden auf Ensemble- und Einzelpartikelniveau mittels der SERS-Spektroskopie untersucht. Hierbei konnten SERS-Spektren einzelner BDMT-verbrückter Dimere schon bei relativ geringer Integrationszeit und Leistung ($P = 225\text{ }\mu\text{W}$, 10 s , $100\times$ Objektiv) detektiert werden.

Somit bieten diese Dimere eine gute Plattform, um diese nach entsprechender Biofunktionalisierung als SERS-Marker für Bildgebungsanwendungen einzusetzen. Dies ist nun Möglich, ohne dass eine vorab zu aufwendige und zeitintensive Trennung zwischen Monomeren und unterschiedlich großen Assemblaten erfolgen muss, wie bei den bisher angewendeten Techniken. [47]

Weitergehend wurde die Möglichkeit getestet, SAMs mit den Aryldithiolen BDT und BPDT auf NP auszubilden. Hierzu wurde der erste NP mit dem jeweiligen Dithiol inkubiert und versucht, CS-Strukturen mit kleinen AuNP auszubilden. Da die kleinen AuNP leichter an die so zur Verfügung stehenden Thiolgruppen binden, kann eine Aussage über die Homogenität des SAMs getroffen werden. Mit beiden Verbindungen konnte unter den hier verwendeten Bedingungen kein SAM ausgebildet werden, mit dem es möglich ist, CS-Strukturen und somit auch keine Dimere herzustellen. Dies kann auf die Krümmung der NP zurückgeführt werden, wodurch die Moleküle geringer geordnete Strukturen ausbilden, im Vergleich zu planaren Au-Oberflächen. Eine andere Möglichkeit besteht darin, eine der Thiolgruppen der Verbindung mit zum Beispiel Acetylgruppen zu modifizieren, wodurch eine bessere Organisation der Moleküle auf der Oberfläche erreicht werden kann. ^[93]

4.3 Präzisionsplasmonik mit idealen Dimeren

4.3.1 Einleitung und Aufgabenstellung

Die plasmonischen Eigenschaften von Nanostrukturen sind stark durch ihre Form geprägt. [25] So haben Ecken, Kanten und Spitzen von nicht-ideal sphärischen NP einen großen Einfluss auf die LSPR und in SERS-Anwendungen auf die Verstärkung des Raman-Signals. Um theoretische Vorhersagen präzise mit experimentellen Ergebnissen zu vergleichen, ist es nötig, die Idealität der verwendeten Nanostrukturen zu erhöhen. Dieses ist noch maßgeblicher bei der Betrachtung von Assemblaten aus mehreren NP. Hierbei stellt ein Dimer das einfachste System dar, um die Plasmonenkopplung zu erforschen. Durch Verwendung ideal sphärischer NP soll es möglich sein Dimere herzustellen, wobei die zwei NP durch eine molekulare Brücke in einem konstanten Abstand zueinander platziert sind, so dass diese eine einheitliche Form und Plasmonenkopplung aufweisen. Dies eröffnet neue Möglichkeiten zu Erforschung fundamentaler Fragestellungen in der Plasmonik und SERS-Spektroskopie.

Es konnte bisher gezeigt werden, dass es möglich ist, durch milde Oxidation kontrolliertes, schrittweises Wachstum oder Laserbestrahlung ideal sphärische NP herzustellen. Diese NP weisen auf Einzelpartikelniveau homogene optische Eigenschaften auf.

Ideale super-sphärische AuNP (ssAuNP) sollen durch milde Oxidation von Nanopolyedern hergestellt und diese über Alkyldithiole zu Dimeren assembliert werden. Die Entwicklung einer Substrat-basierten Assemblierungsmethode ermöglicht es Dimere kontrolliert herzustellen. Das Ziel ist es, die optischen Eigenschaften der idealen ssAuNP und Dimeren mit nicht-idealen AuNP und Dimere zu vergleichen und die SERS-Eigenschaften der idealen Dimere zu erforschen.

4.3.2 Synthese von super-sphärischen Gold-Nanopartikeln

Die Synthese von super-sphärischen Einkristall-AuNP (ssAuNP) erfolgt über eine schrittweise Keimpartikel-basierte Wachstumsmethode mit einer anschließenden milden Oxidation der NP-Oberfläche. Zunächst werden Au^{3+} -Ionen durch NaBH_4 zu Au^0 reduziert, welche sich zu kleinen Clustern zusammenlagern. Diese sind durch CTAB-Moleküle stabilisiert. CTAB ist eine quartäre *tri*-Methylammoniumverbindung mit einer Hexadecyl-Kette und bildet eine Doppelschicht um die Partikel aus.

Im ersten Wachstumsschritt werden Au^{3+} -Ionen durch Ascorbinsäure zu Au^+ reduziert. Durch die Zugabe der Cluster findet eine weitere Umsetzung von Au^+ zu Au^0 statt, wodurch sich größere AuNP bilden. [94] Das Maximum der Plasmonenbande der NP liegt bei 520 nm und die aus den TEM-Aufnahmen ermittelte durchschnittliche Größe beträgt 24.6 ± 3.1 nm (Abb. 22). Diese dienen als Keimpartikel in der weiteren Synthese.

Der nächste Schritt ist die Umsetzung der Keimpartikel zu größeren AuNP, welche die Form von Polyedern besitzen. Die Größe der Nanopolyeder hängt vom zugegeben Volumen an Keimpartikeln zur Wachstumslösung ab. Wird eine geringe Menge an kleinen AuNP verwendet, kommt es zur Ausbildung von größeren NP und somit zu einer stärkeren Rotverschiebung der Plasmonenbande im Vergleich zu der Zugabe von größeren Mengen AuNP (Abb. 23).

Das Volumen an Keimpartikeln wurde zwischen 0.75 mL und 18.0 mL variiert (für den in Kapitel 3.7.2 beschriebenen Ansatz), um einen möglichst großen Bereich an NP-Größen abzudecken, die für die spätere Anwendung als SERS-Substrat interessant sind. Die Partikel weisen einen Durchmesser zwischen 44.6 ± 2.6 nm und 117.0 ± 8.9 nm, sowie eine geringe

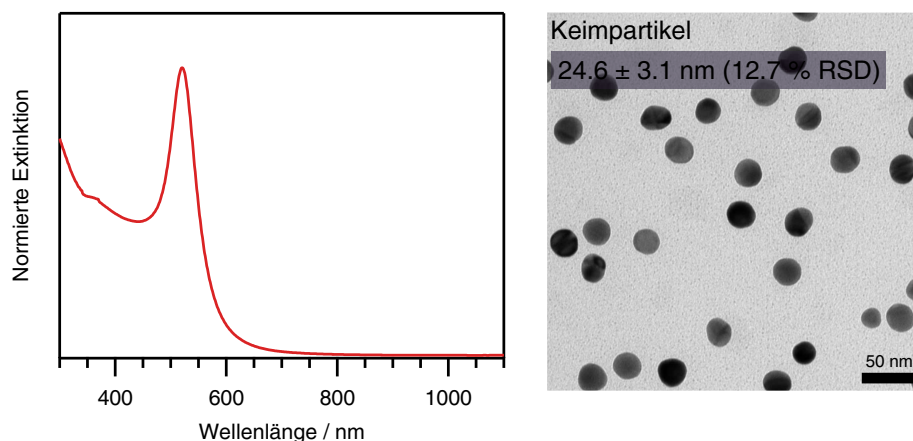


Abb. 22: Charakterisierung der Keimpartikeln. Normiertes Extinktionsspektrum mit dem Maximum der Plasmonenresonanz bei 520 nm (links) und TEM-Aufnahme mit einer Größe von $24.6 \pm 3.1 \text{ nm}$ (rechts).

Standardabweichung in der Partikelgrößenverteilung zwischen 5.8 % und 7.6 % auf, trotz ihrer anisotropen Form (Abb. 25).

Die Nanopolyeder verfügen über viele Kristallfacetten, wie Ecken, Spitzen und Kanten, an denen die Au-Atome eine höhere Oberflächenenergie aufweisen als auf den Flächen. Durch ein mildes Oxidationsmittel, wie Au^{3+} -Ionen, können diese Atome in Anwesenheit von CTAB zu Au^+ reduziert und die Nanopolyeder zu sphärischen NP umgeformt werden, wie in Abb. 24 schematisch gezeigt.

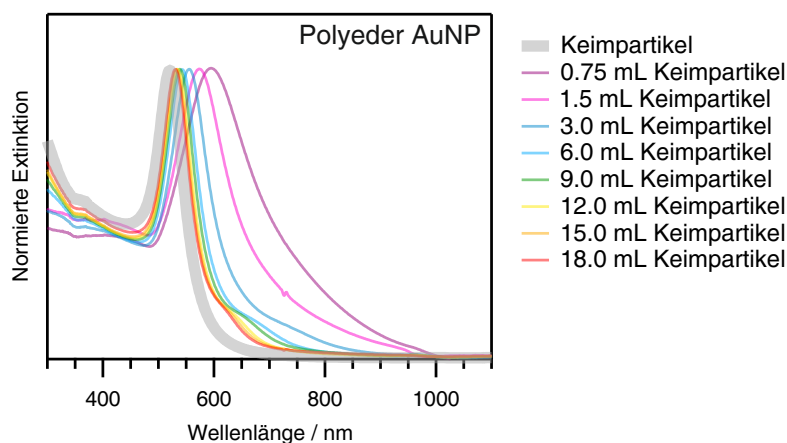


Abb. 23: Normierte Extinktionsspektren der synthetisierten Polyeder AuNP. Variation des zugegebenen Volumen an Keimpartikeln, ein geringeres Volumen führt zu größeren AuNP und somit zu einer Rotverschiebung der Plasmonenbande.

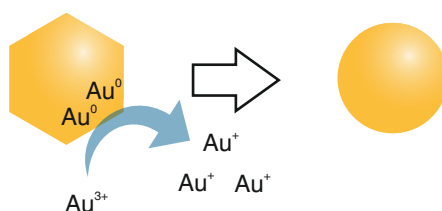


Abb. 24: Schema der milden Oxidation der Polyeder AuNP zu super-sphärischen AuNP durch Reduktion von Au^{3+} - zu Au^+ -Ionen.

Die Oxidation der Oberfläche erfolgte bei allen Proben mit der gleichen Menge an Au^{3+} -Ionen. Hierbei werden die Oberflächenatome von dem NP herunter gelöst und damit schrumpft der Durchmesser der Nanopolyeder (Abb. 26). Daraus resultiert eine Blauverschiebung der jeweiligen Plasmonenbande (Abb. 27).

Die, auf diese Weise hergestellten, ssAuNP weisen eine geringere Halbwertsbreite in der

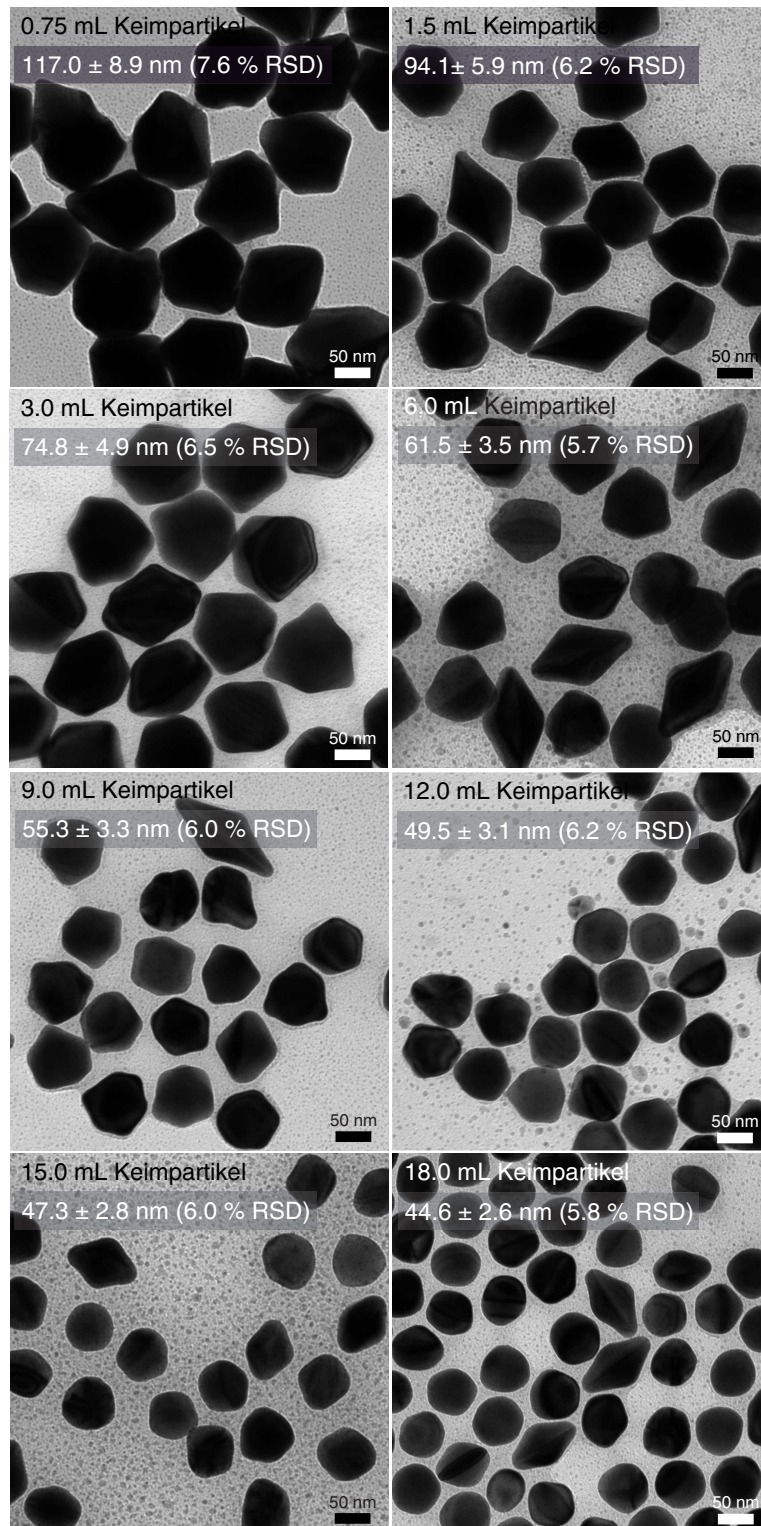


Abb. 25: TEM-Aufnahmen der synthetisierten Polyeder AuNP.

Plasmonenbande auf als konventionell hergestellte Citrat-stabilisierte nicht-ideal sphärischer AuNP. Dies ist auf die höhere Rauigkeit und Defekte in der Oberfläche der Citrat-stabilisierten AuNP zurückzuführen, die einen großen Einfluss auf die Dämpfung der Plasmonen und eine daraus resultierende Bandverbreiterung hat. [95]

Anhand von TEM-Aufnahmen wurde die Größe der ssAuNP, sowie die Morphologie der Partikel bestimmt (Abb. 26). Es ist zu erkennen, dass es bei allen Partikeln zur Umformung von Polyedern

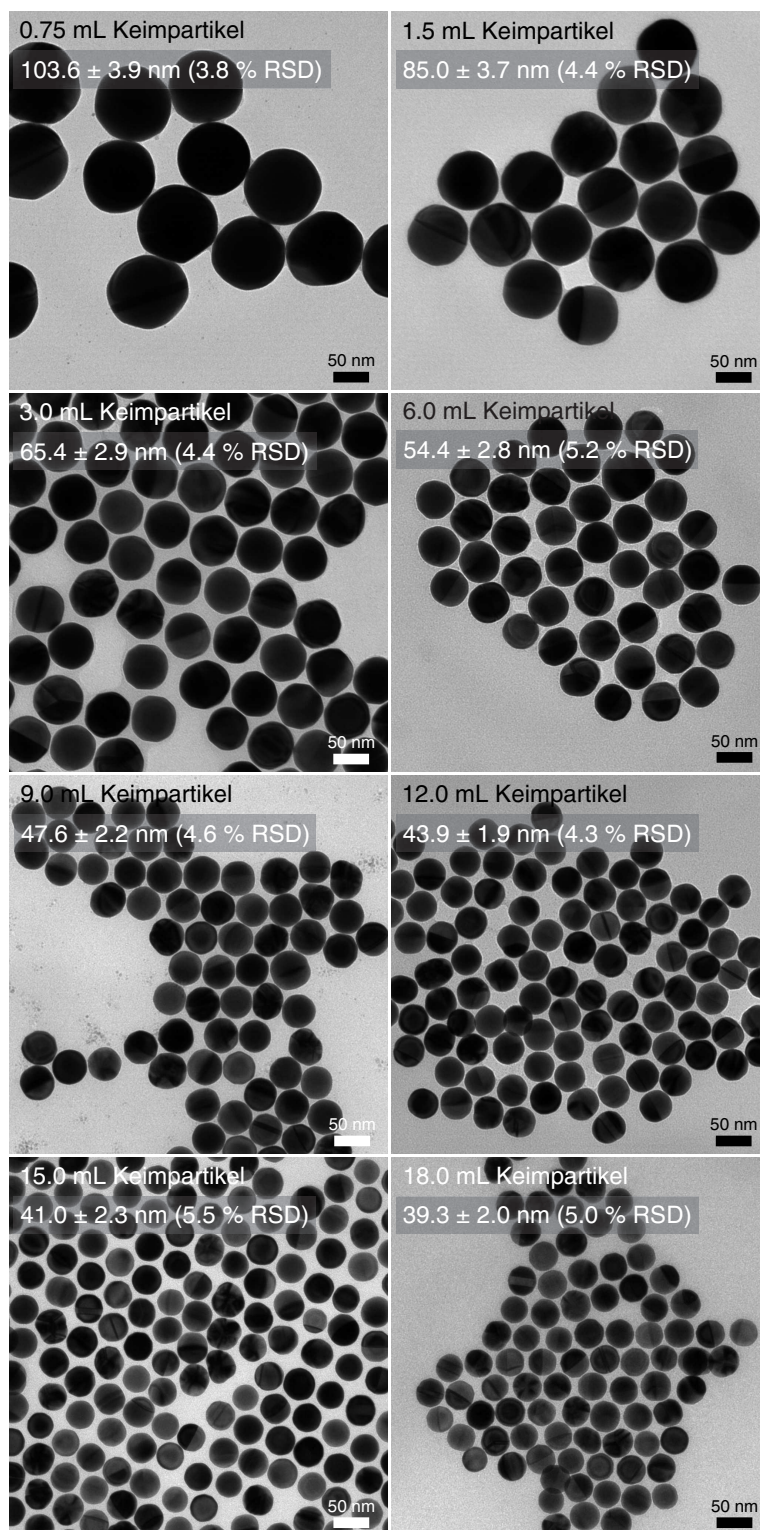


Abb. 26: TEM-Aufnahmen der synthetisierten super-sphärischen AuNP.

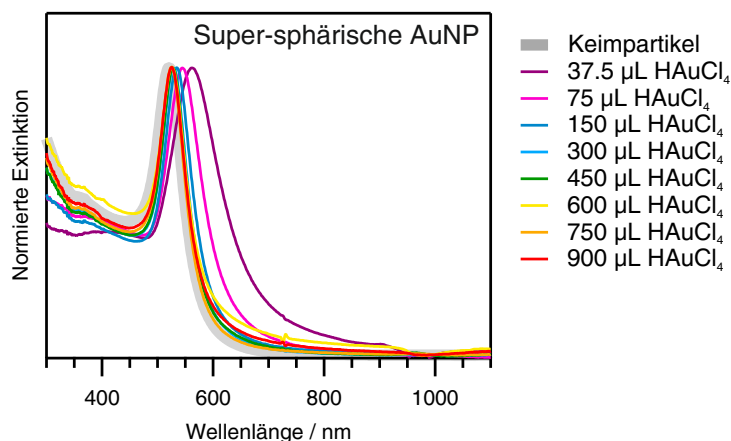


Abb. 27: Normierte Extinktionsspektren der super-sphärischen AuNP.

zu sphärischen NP kommt. In den Proben sind jedoch Unregelmäßigkeiten in der Morphologie der Partikel, wie zum Beispiel Ellipsoide zu erkennen, die aber keinen großen Einfluss auf die spätere Anwendbarkeit der NP haben. Die Standardabweichung der Größenverteilung ist mit 3.8 % bis 5.5 % deutlich kleiner als bei in der Größe vergleichbaren nicht-ideal sphärischen Citrat-stabilisierten AuNP ^[71], welche typischerweise zwischen 5 % und 10 % liegen.

Beide Charakterisierungsmethoden (TEM und die Extinktionsspektroskopie) liefern ähnliche Ergebnisse. Durch die Auftragung der Größe der ssAuNP (bestimmt durch TEM-Aufnahmen) und das Maximum der Plasmonenbande jeweils gegen das Volumen der Keimpartikel, ist ein ähnlicher Trend beider Kurvenläufe zu beobachten. (Abb. 28). Es kommt bei kleinen Volumina an Keimpartikeln zu einer signifikanteren Änderung der Größe, sowie stärkeren Rotverschiebung der Plasmonenbande. Ab einem Keimpartikelvolumen von 6 mL sind nur noch relativ kleine Änderungen in der Partikelgröße zu beobachten. Dies resultiert aus der Menge an Au-Ionen, die in der Wachstumslösung zur Verfügung stehen, sowie der großen Anzahl an kleinen Keimpartikeln. Außerdem ist zu erkennen, dass es ab einem Volumen von 6 mL bei den ssAuNP zu keiner großen Änderung der Plasmonenbande kommt. Durch die homogene Form und schmale Größenverteilung der ssAuNP spielt der Retardations- und nichtlokale Effekt eine geringere Rolle.

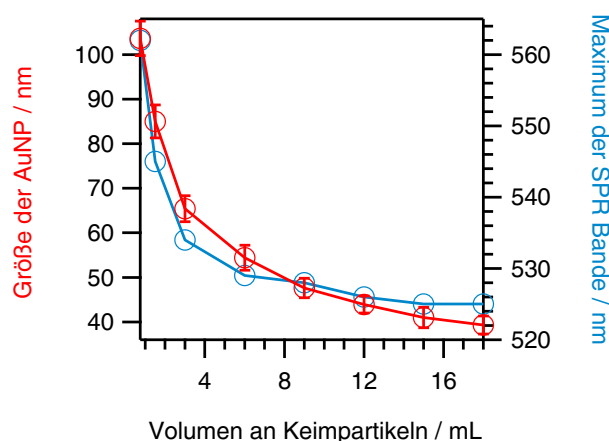


Abb. 28: Auftragung der Größe und des Maximums der SPR Position der synthetisierten super-sphärischen AuNP gegen das verwendete Volumen an Keimpartikeln für die Herstellung der Polyeder AuNP.

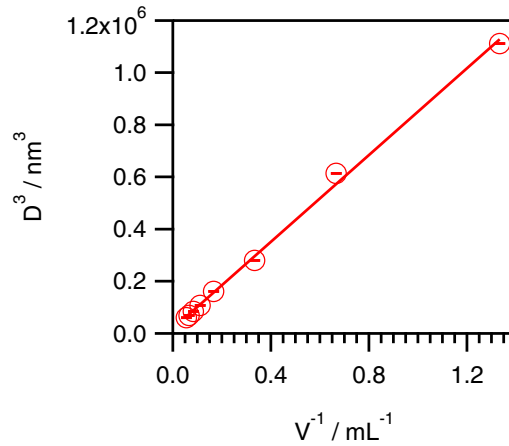


Abb. 29: Auftragung des kubischen Durchmessers der super-sphärischen AuNP (D^3) gegen das reziproke Volumen der verwendeten Keimpartikel (V^{-1}). Durch die lineare Regression ($R^2=0.998$) lässt sich die Menge an Keimpartikeln berechnen, die nötig ist, um einen bestimmten Durchmesser an ssAuNP zu synthetisieren.

Weitergehend wurde, analog zu Q. Ruan *et al.* [96] und Gao *et al.* [97], die Abhängigkeit des kubischen Durchmessers der ssAuNP zum inversen Keimpartikelvolumen betrachtet (Abb. 29). Dieses zeigt ein lineares Verhalten, wodurch sich für eine bestimmte Größe an ssAuNP das nötige Volumen an Keimpartikel berechnen lässt. Da die Menge an eingesetzten Au^{3+} -Ionen konstant ist und nur die Menge an Keimpartikeln variiert, kommt es nur zum Aufwachsen der Au^0 -Atome auf die bereits existierenden NP und nicht zur Bildung neuer kleiner AuNP. Somit ist die Größe der ssAuNP nur von der Menge und dem Durchmesser der Keimpartikel ($D_{Keimpartikel}$) abhängig, woraus das lineare Verhalten resultiert. Es ergibt sich daher folgender Zusammenhang zwischen Durchmesser der ssAuNP (D) und Volumen an Keimpartikeln (V).

$$D^3 = C \frac{1}{V} + D_{Keimpartikel}^3, \quad (10)$$

Damit die Steigung linear bleibt, was durch die Konstante C ausgedrückt wird, wurde die gleichbleibende Menge an Wachstumslösung und Au^{3+} -Ionen für die Oxidation der NP hinzugeben.

Hierdurch ergibt sich eine Steigung von $(8.328 \pm 0.164) \times 10^4 \text{ nm}^3 \text{ mL}$ und einen Ordinatenabschnitt, welcher dem kubischen Keimpartikel-Durchmesser entspricht, von $(17.890 \pm 8.980) \times 10^3 \text{ nm}^3$.

Die ermittelte Konstante C ist deutlich größer als der Literaturwert. [96] Dies würde somit bei einfacher Anwendung der von Q. Ruan *et al.* ermittelten C zu deutlich kleineren AuNP führen. Es zeigt sich, dass die Laborbedingungen, sowie der Einsatz der verwendeten Chemikalien/Substanzen einen deutlichen Unterschied auf das Wachstumsverhalten der NP hat.

Weitergehend wurde die, für die Umformung der Nanopolyeder in die ssAuNP, benötigte Menge an $HAuCl_4$ variiert, um ein möglichst homogenes Ergebnis an sphärischen NP zu erhalten und den Einsatz an Gold gering zu halten. Es ist bekannt, dass eine zu hohe Konzentration an Au^{3+} neben der Auflösung der NP durch Oxidation auch zur Reduktion von Au -Ionen führt, welche auf die AuNP binden. Dies führt zu Bildung von größeren AuNP und zu einer inhomogenen Größenverteilung. [98] Daher wurde die Konzentration an $HAuCl_4$, die bereits im vorhergehenden

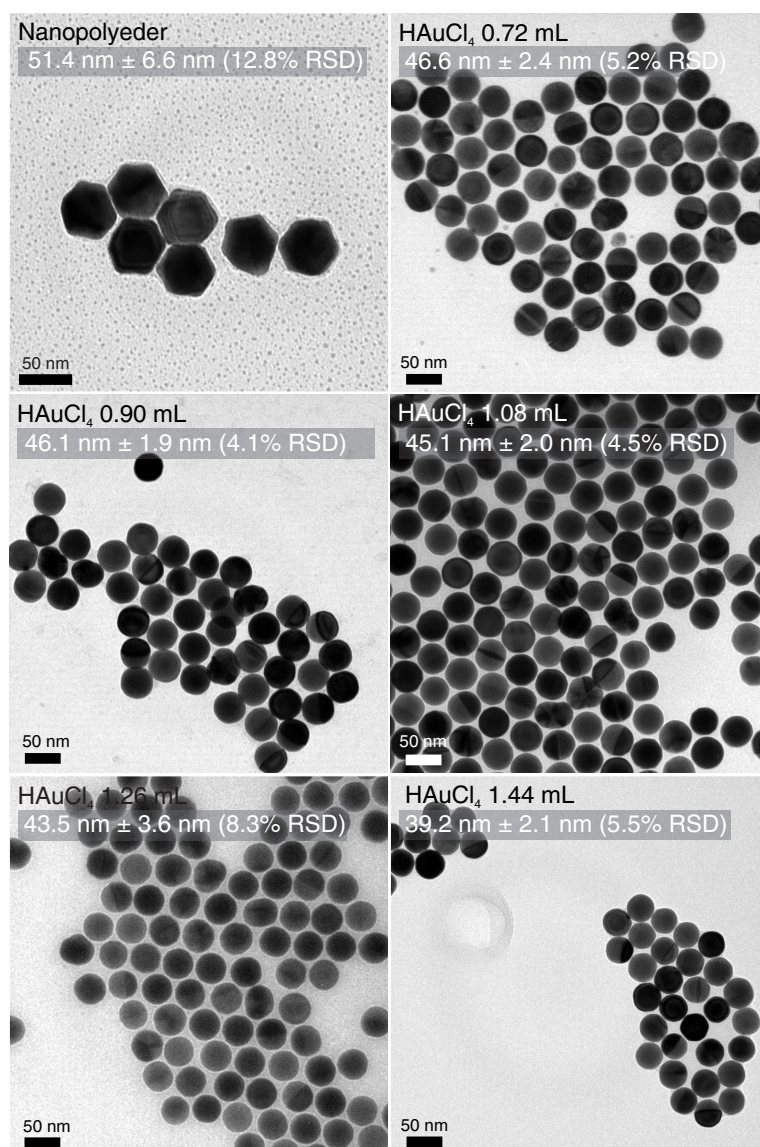


Abb. 30: TEM-Aufnahmen der synthetisierten ssAuNP durch Variation der verwendeten Volumina an HAuCl₄ zwischen 0.72 mL und 1.44 mL zum Umformen der Nanopolyeder.

Experiment verwendet wurde, konstant gehalten (10 mM) und lediglich das Volumen zwischen 0.72 mL und 1.44 mL variiert. Anhand der TEM-Aufnahmen (Abb. 30) ist, wie erwartet, zu erkennen, dass mit einer steigenden Menge an HAuCl₄, die zu den Nanopolyedern gegeben wird, der Durchmesser der NP abnimmt. Somit konnten ssAuNP mit einer Größe zwischen 46.6 ± 2.4 nm und 39.2 ± 2.1 nm hergestellt werden.

Durch die Umformung der Nanopolyeder zu ssAuNP (0.72 mL bis 1.44 mL) kommt es, wie auch zuvor gezeigt, zu einer Blauverschiebung, sowie Abnahme der Halbwertsbreite der Plasmonenbande (Abb. 31). Die geringe Verschiebung der Plasmonenbande ist konsistent mit denen in Abb. 28 dargestellten Ergebnissen und spiegelt die homogene Form der NP wider. Die TEM-Aufnahmen der ssAuNP, die mit einem Volumen von 1.08 mL HAuCl₄ umgeformt wurde, zeigte die geringsten Defekte im Vergleich zu den anderen Proben. Daher wurden für alle weiteren Experimente 1.08 mL der 10 mM HAuCl₄-Lösung für die Herstellung der ssAuNP verwendet.

Für die Dimerassemblierung wurden ssAuNP Monomere mit einer Größe von 50 ± 2.5 nm synthetisiert. Die aus TEM-Aufnahmen ermittelte Partikelgrößenverteilung ist in Abb. 32

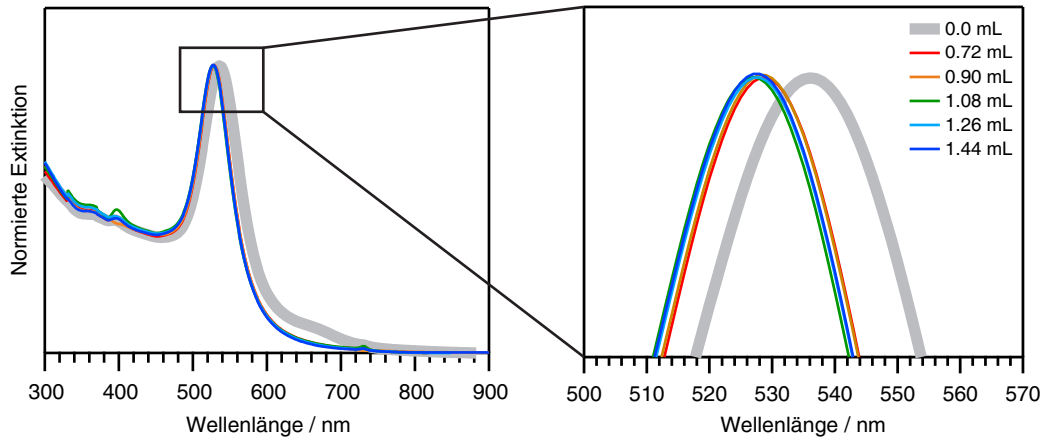


Abb. 31: Normierte Extinktionsspektren der synthetisierten ssAuNP durch Variation der verwendeten Volumina an HAuCl₄ zwischen 0.72 mL und 1.44 mL zum Umformen der Nanopolyeder (entspricht einem Volumen von 0.0 mL HAuCl₄).

dargestellt. Als Maß für die sphärische Form der NP wurde die Rundheit R der ssAuNP bestimmt. Diese ist über folgende Beziehung definiert:

$$R = \frac{4 \cdot A}{\pi \cdot D^2}, \quad (11)$$

wobei A der tatsächlichen Fläche und D dem maximalen Radius des jeweiligen NP entspricht. Ein Wert von 1 entspricht dabei einem ideal sphärischen Körper. Die ermittelte Rundheit von 0.976 ± 0.015 weist auf eine annähernd ideal sphärische Form der ssAuNP hin und ist etwas besser als die von Lee *et al.* hergestellten ssAuNP. [57]

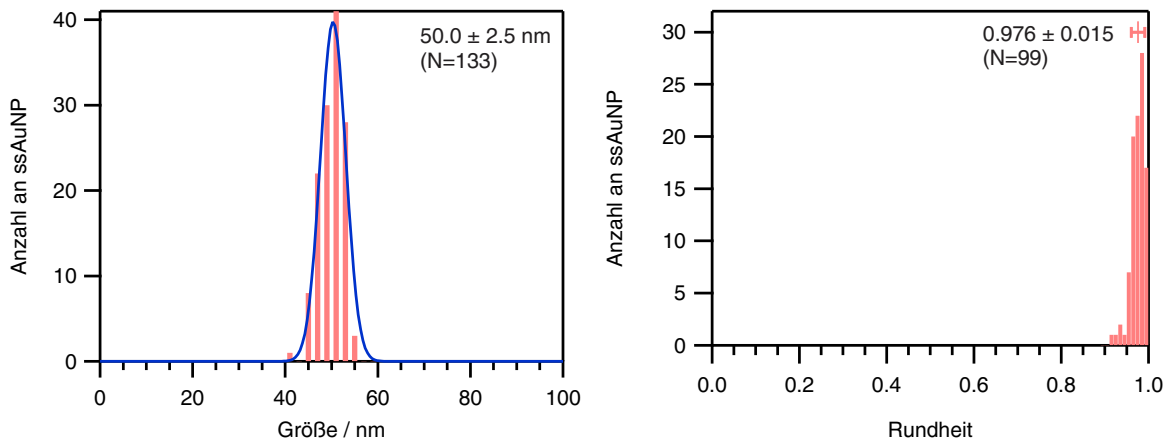


Abb. 32: Partikelgrößenverteilung (50.0 ± 2.5 nm) sowie Rundheit (0.976 ± 0.015) der in den folgenden Abschnitten für Dimerpräparation verwendeten ssAuNP.

4.3.3 Assemblierung von ssAuNP

Beruhend auf der von Yoon *et al.* [19] gezeigten Methode zur schrittweisen Substrat-basierten Präparation von Dimeren mit Citrat-stabilisierten AuNP wurde hier eine Methode entwickelt, mit der es möglich ist, CTAB-stabilisierte ssAuNP zu assemblieren. Aufgrund der einheitlichen sphärischen Morphologie der Partikel stellen die Dimere das ideale System für einen Vergleich zwischen Experiment und Simulation dar. Weitergehend bietet diese Methode eine deutliche Zeitersparnis im Vergleich zum oben gezeigten Verfahren, da sowohl die Funktionalisierung der Glasoberflächen mit APTMS, als auch der Disilanisierungsschritt entfällt.

Zunächst wurde hierbei die Glasoberfläche mittels einer RBS-Reinigungslösung gesäubert und mit dem ersten ssAuNP inkubiert. Durch Variation der Konzentration an CTAB bei konstanter ssAuNP-Konzentration (20 pM) wurde das Adsorptionsverhalten untersucht. Aus der Literatur [99–101] und eigenen Experimenten ist bekannt, dass die ssAuNP nicht auf dem Glassubstrat adsorbieren (Abb. 33). Bei einer CTAB-Konzentration von $0.36 \mu\text{M}$ und $50.4 \mu\text{M}$ ist keine bzw. nur zu einer geringen Adsorption der NP. Bei einer Konzentration zwischen $1 \mu\text{M}$ und $5 \mu\text{M}$ kommt es zu einem konstanten Adsorptionsverhalten der ssAuNP.

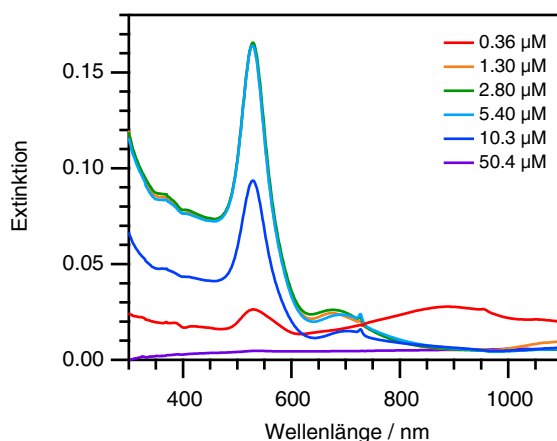


Abb. 33: Extinktionsspektren der auf Glas adsorbierten ssAuNP bei unterschiedlicher CTAB-Konzentration ($0.36 \mu\text{M}$ bis $50.4 \mu\text{M}$) und konstanter ssAuNP-Konzentration (20 pM).

Im nächsten Schritt wurde die Konzentration der ssAuNP-Dispersion bei einer konstanten CTAB-Konzentration ($5 \mu\text{M}$) verändert. Durch Messung der Extinktionsspektren (Abb. 34) und Aufnahme von REM-Bildern (Abb. 35) konnte die Bedeckung der Oberfläche mit ssAuNP ermittelt werden. Dies ist nötig, um eine gleichmäßige Bedeckung der Oberfläche zu erreichen, damit es nicht durch einen zu dichten Abstand der ersten ssAuNP schon zur Bildung von Dimeren, Trimeren oder höheren Assemblaten kommt. Bei einer Konzentration von 1 pM bzw. 2.5 pM an ssAuNP ist die Oberflächenbedeckung sehr gering, wodurch in Summe nur wenige Dimere entstehen würden. Hingegen adsorbieren bei einer Konzentration von 10 pM so viele ssAuNP, dass es später zur unkontrollierten Bildung von NP-Clustern kommen würde. Bei 5 pM wurde eine homogene und optimale Bedeckung der Glasoberfläche erreicht, daher wurde für alle weiteren Versuche diese ssAuNP-Konzentration verwendet. Aus der Korrelation der Anzahl an ssAuNP pro Glassubstrat, ermittelt aus den REM-Aufnahmen und dem Maximum der Plasmonenbande, ist in dem untersuchten Bereich ein lineares Adsorptionsverhalten zu erkennen (Abb. 34 rechts).

Zur Funktionalisierung der ersten immobilisierten ssAuNP mit einem Brückenmolekül muss die CTAB-Doppelschicht effektiv durchbrochen werden. Aufgrund der hohen Stabilität der

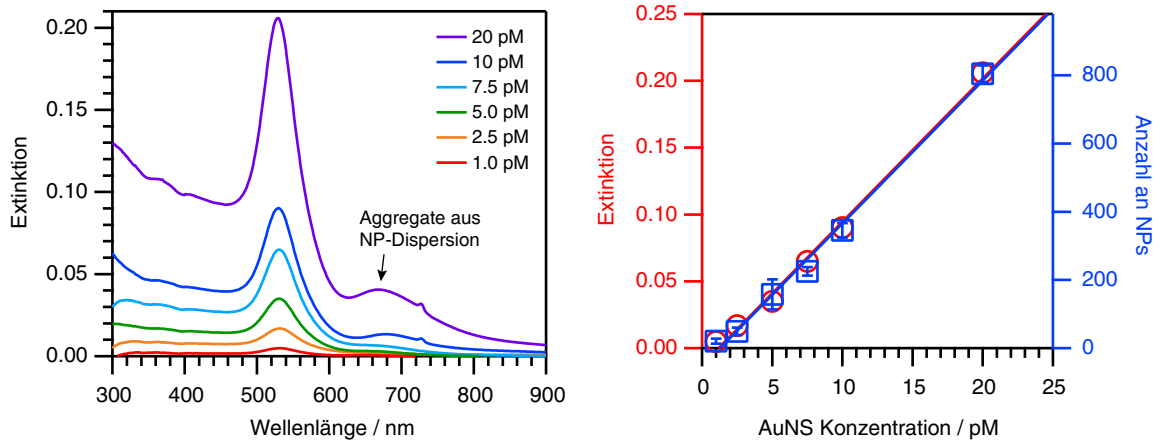


Abb. 34: Extinktionsspektren der Glassubstrate mit adsorbierten ssAuNP mit unterschiedlichen Konzentrationen (1.0 pM bis 20 pM) der inkubierten ssAuNP-Dispersion. Durch kleine Aggregate in der ssAuNP-Dispersion kommt es zur ungewollten Adsorption dieser auf die Oberfläche und zu einem zweiten Maximums der Plasmonenbande bei 675 nm (links). Korrelation des Maximums der Plasmonenbande mit der Anzahl an NP pro Substrat (ermittelt aus je fünf REM-Aufnahmen)(rechts).

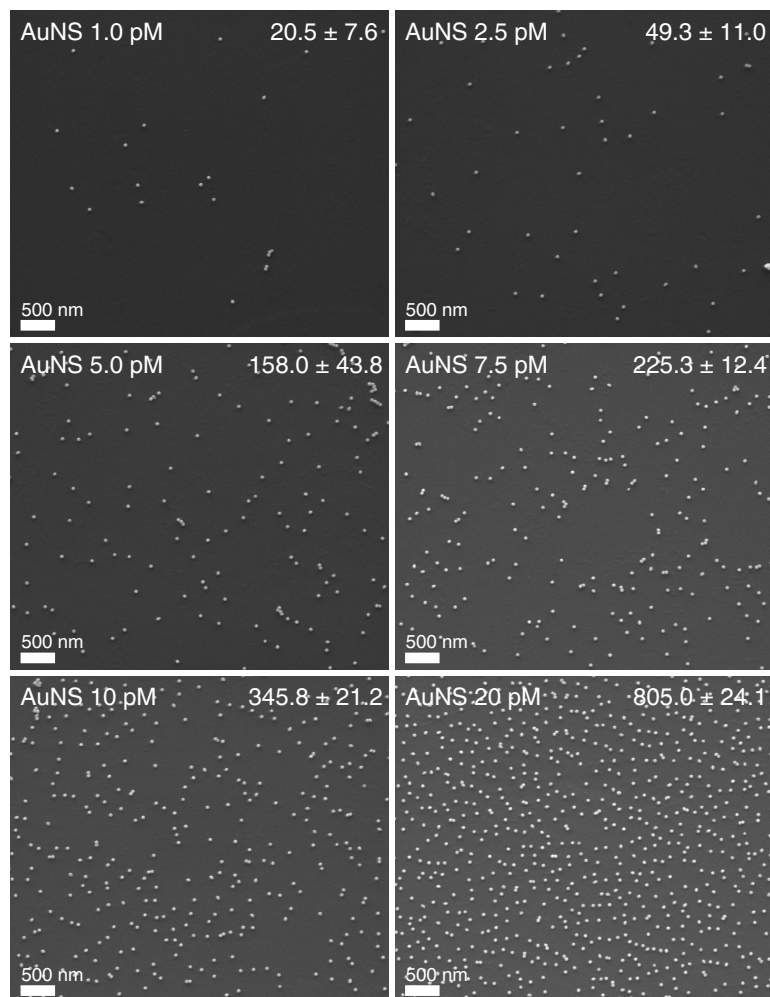


Abb. 35: Repräsentative REM-Aufnahmen der Glassubstrate mit adsorbierten ssAuNP bei unterschiedlichen Konzentration der inkubierten ssAuNP-Dispersion zwischen 1.0 pM und 20 pM.

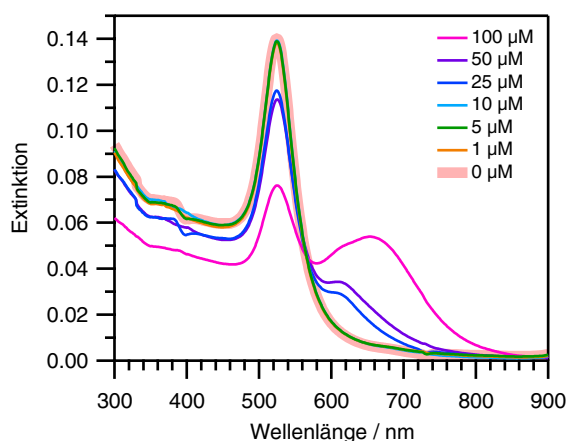


Abb. 36: Extinktionsspektren der ssAuNP-Dispersion (10 pM, 5 μ M CTAB) in EtOH mit unterschiedlichen Konzentrationen an NaBr (0 μ M bis 100 μ M) nach einer Inkubationszeit von 16 h.

Doppelschicht auf den ssAuNP können die verwendeten thiolierten Moleküle nicht einfach durch die Schicht penetrieren und einen SAM ausbilden. Die Verwendung von organischen Lösungsmitteln, wie kurzkettige Alkohole oder Acetonitril, führt zur Erhöhung der kritischen Mizellbildungskonzentration (*critical micelle concentration*, CMC) des CTABs und zur Destabilisierung der Doppelschicht um den NP.^[102] Dabei kommt es jedoch nicht zu einer vollständigen Entfernung der CTAB-Moleküle von der Oberfläche. Diese kann erst durch die Erhöhung der Ionenstärke des Solvents, beispielsweise durch Salzionen, erreicht werden.^[103–106] Auch für die Anbindung des zweiten ssAuNP an den ersten mit dem dithiolischen Brückenmolekül-funktionalisierten ssAuNP ist die Verwendung eines organischen Lösemittels, sowie die Erhöhung der Ionenstärke nötig. Hierzu wurden unterschiedliche Mengen an NaBr zur in EtOH dispergierten ssAuNP gegeben und anschließend die Stabilität des Kolloids durch Extinktionsmessungen ermittelt (Abb. 36).

Eine Anbindung des zweiten Partikels an den auf dem Substrat adsorbierten Partikel konnte unter diesen Bedingungen (10 μ M NaBr in der zweiten ssAuNP-Dispersion) jedoch nicht erreicht werden. Daraus resultiert, dass die ssAuNP dispergiert in Wasser oder reinem EtOH stabil sind und nicht ohne weiteres aggregieren (Abb. 37). EtOH führt zum Aufbrechen der CTAB-Doppelschicht, jedoch nicht direkt zur Aggregation der NP. Durch Erhöhung der NaBr Konzentration werden mehr und mehr CTAB-Moleküle von der NP-Oberfläche entfernt bis die Partikel nicht mehr ausreichend stabilisiert sind. Aufgrund von attraktiven Van-der-Waals-Wechselwirkungen kommt es schließlich zur unkontrollierten Aggregation der AuNP.

Die Funktionalisierung der ersten ssAuNP, die auf dem Glassubstrat immobilisiert wurden, erfolgt durch die Inkubation mit einer ethanolischen Alkandithiol-Lösung (1 mM). Als verbrückendes Molekül wurden 1,6-Hexanedithiol (C6), 1,8-Octanedithiol (C8) und 1,10-Decanedithiol (C10) verwendet. Um den Effekt der Ionenstärke bei der SAM-Ausbildung zu untersuchen, wurde zur Erhöhung der Ionenstärke die Proben ohne, sowie mit NaBr (1 mM) inkubiert.^[107] Anhand der Extinktionsspektren (Abb. 38) ist vor (links) und nach (rechts) der Zugabe des Linkers, wie zu erwarten, keine signifikante Änderung zu beobachten.

Anschließend erfolgt die Zugabe der zweiten ssAuNP (10 pM) in EtOH mit einer NaBr-Konzentration von 10 μ M. Vergleicht man die Extinktionsspektren vor (Abb. 38, rechts) und

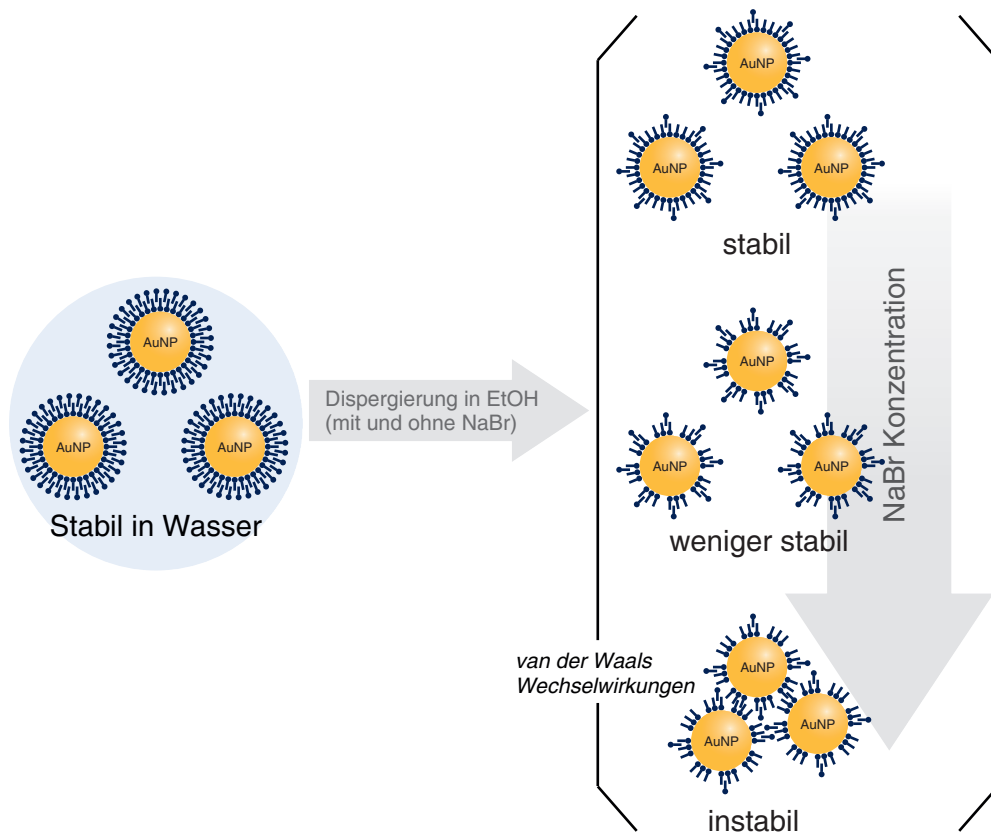


Abb. 37: Schema Destabilisierung der CTAB-Doppelschicht durch Dispergierung der ssAuNP in EtOH und Erhöhung der Ionenstärke des Mediums durch Zugabe von NaBr.

nach der Inkubation (Abb. 39, links), ist zu erkennen, dass es nicht zur Anbindung der NP und Ausbildung von Dimeren kam. Es kommt jedoch zur Aggregation der zweiten ssAuNP-Dispersion (Abb. 39, rechts) und daher zur Bildung von Aggregaten auf dem Glassubstrat, welches durch die breite Plasmonenbande oberhalb von 700 nm (Abb. 39, links) beobachtet werden kann. Die in Abb. 40 gezeigten REM-Aufnahmen der funktionalisierten Glassubstrate bestätigen, dass es nur zur Bildung weniger Dimere gekommen ist (gelbe Kreise). Ebenso ist die unkontrollierte

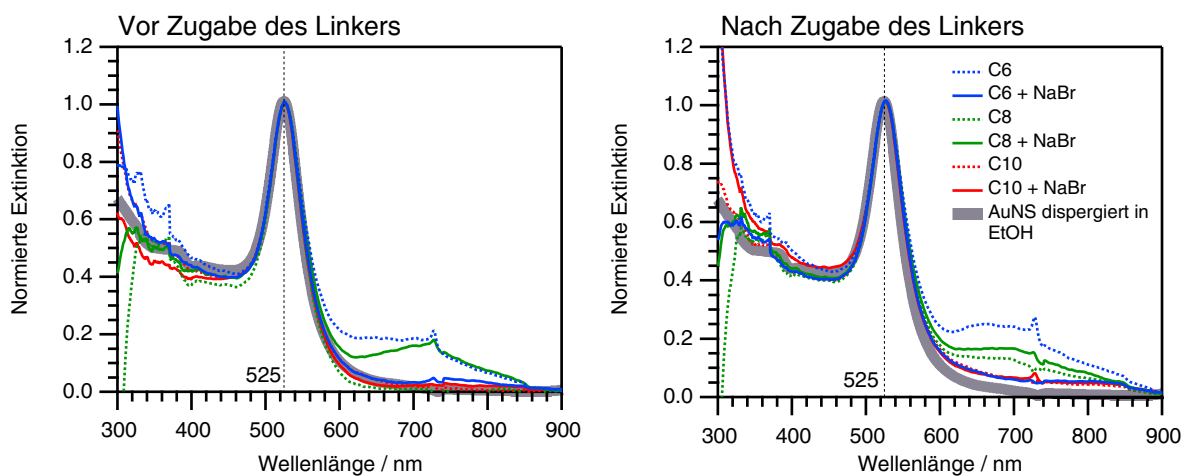


Abb. 38: Normierte Extinktionsspektren der auf dem Glassubstrat immobilisierten ersten ssAuNP vor (links) und nach Inkubation mit dem Linkermolekül (C6, C8, C10), mit und ohne NaBr (1 mM) in EtOH (rechts).

Aggregation von größeren NP-Clustern zu beobachten.

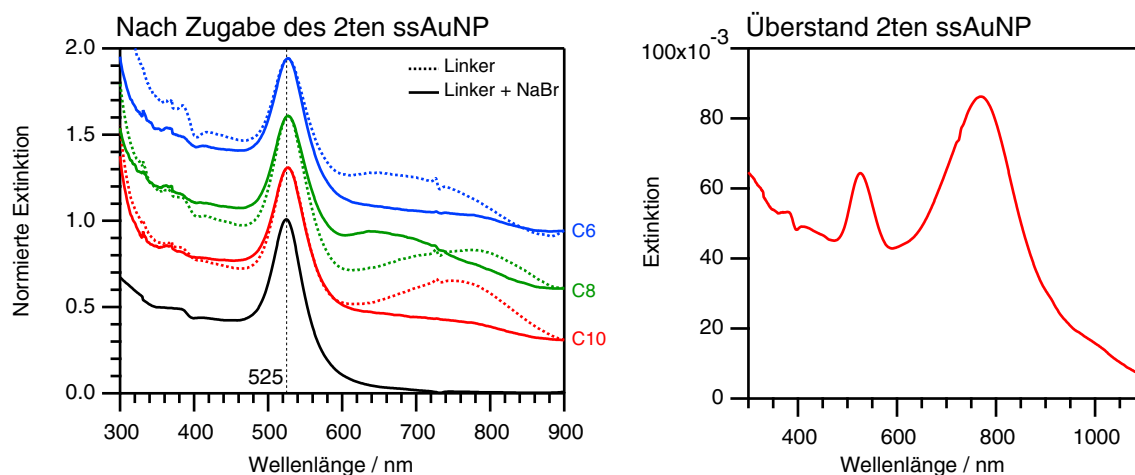


Abb. 39: Normierte Extinktionsspektren nach Inkubation der Linker (C6, C8, C10) funktionalisierten ersten ssAuNP mit den zweiten ssAuNP in EtOH mit NaBr ($10 \mu\text{M}$) (links). Extinktionspektrum des Überstandes der zweiten ssAuNP, welche unter den Inkubationsbedingungen aggregiert sind (rechts).

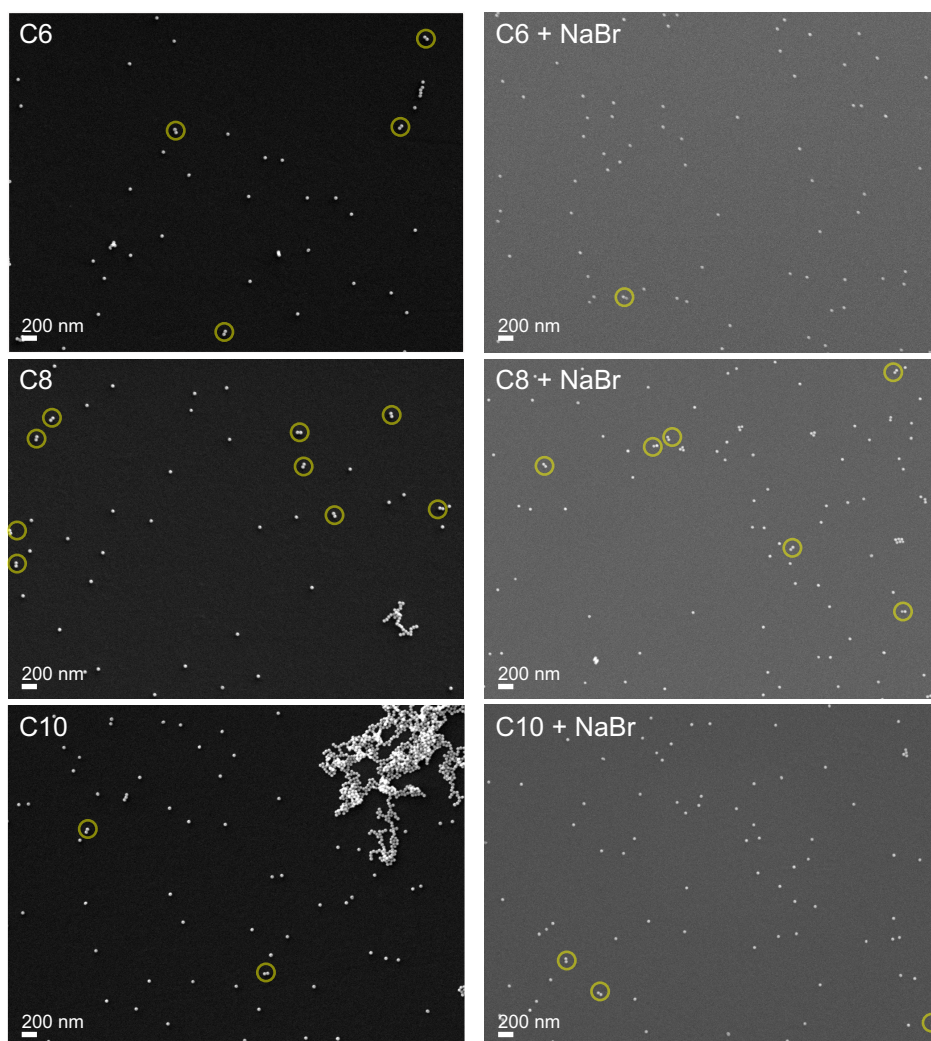


Abb. 40: REM-Aufnahmen der Glassubstrate mit adsorbierten ssAuNP mit unterschiedlichen Linkermolekülen (1 mM) mit und ohne NaBr (1 mM) nach Inkubation mit der zweiten ssAuNP-Dispersion.

Um eine bessere Anbindung der NP zu erreichen, muss somit die CTAB-Doppelschicht stärker destabilisiert werden. Dies kann durch die Zugabe von höheren Konzentrationen an NaBr ($> 10 \mu\text{M}$) gelingen, welches jedoch nur zu einer schnelleren Aggregation des Kolloids führt (siehe Abb. 36). Alternativ ist die Löslichkeit der CTAB-Moleküle zu erhöhen. Oberhalb von 30°C erhöht sich diese im Vergleich zur RT, wodurch Goldoberflächen-affine Moleküle besser an den NP binden können.

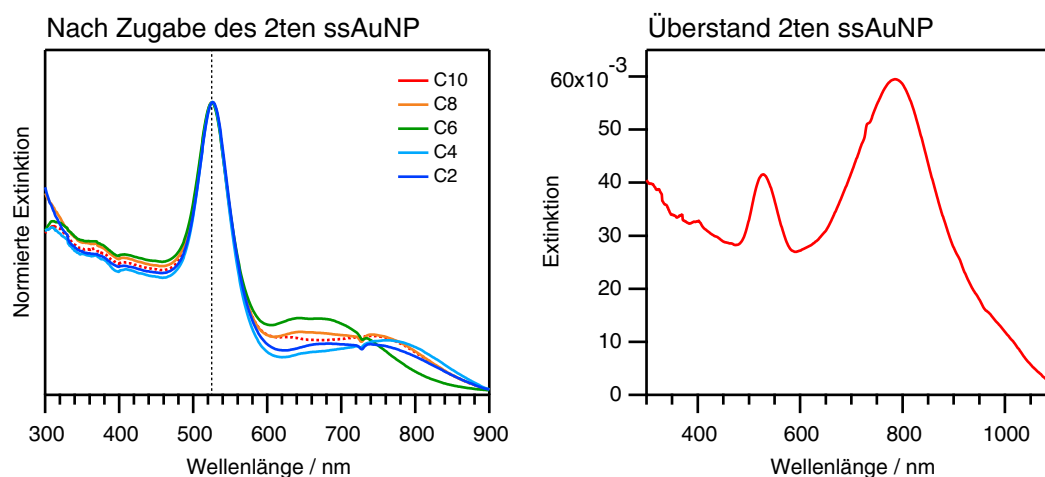


Abb. 41: Normierte Extinktionsspektren nach Inkubation der Linker-funktionalisierten (C2, C4, C6, C8 oder C10) ersten ssAuNP mit den zweiten ssAuNP in EtOH mit NaBr ($10 \mu\text{M}$) bei 30°C (links). Extinktionsspektrum des Überstandes der zweiten ssAuNP, die unter den Inkubationsbedingungen aggregiert sind (rechts).

Dabei zeigte sich (Abb. 41, links), dass unter gleichen Bedingungen keine Dimerbildung zu beobachten ist. Hierbei ist nur auf die Bildung von großen NP-Aggregaten auf der Glasoberfläche (breite Plasmonenbande oberhalb von 600 nm) zu schließen. Des Weiteren ist auch die Aggregation der zweiten ssAuNP-Dispersion (Abb. 41, rechts) zu erkennen.

4.3.4 Ligandenaustausch von CTAB- zu Citrat-stabilisierten ssAuNP

Somit ist es nicht möglich, unter den bisher verwendeten Reaktionsbedingungen (EtOH und NaBr) ssAuNP, kontrolliert über dithiolische Brückenmoleküle zu assemblieren. Yoon *et al.* ^[19] demonstriert, dass die Dimer-Bildung mit Citrat-stabilisierten AuNP sehr gute Ausbeuten liefert. Dies lässt sich auf die schwächere Wechselwirkung der Citrat-Moleküle mit der AuNP-Oberfläche zurückführen, wodurch die Thiole besser binden können, im Vergleich zur robusten CTAB-Doppelschicht. Bei CTAB-stabilisierten Au-Nanorods (AuNR) konnte ein Ligandenaustausch zu Citrat demonstriert werden. ^[108] Hierbei wurden die CTAB-stabilisierten AuNR mit Polystyrolsulfonat (PSS), einem anionischen Polyelektrolyt, als Waschmittel versetzt, welches zunächst auf der CTAB-Doppelschicht bindet und diese anschließend ersetzt. ^[109] Durch Waschen mit Citrat-Lösung kann anschließend PSS von der AuNR-Oberfläche durch Citrat substituiert werden.

Die ssAuNP wurden hierzu in einer 0.1%igen wässrigen PSS-Lösung dispergiert, das die Konzentration der ssAuNP $100 \mu\text{M}$ und an CTAB $54 \mu\text{M}$ beträgt, eine Stunde inkubiert, zentrifugiert ($590 \times g$, 35 min) und in der gleichen Menge wässriger Citrat-Lösung (5 mM) redispergiert. Nach 16 Stunden wurde der Waschvorgang wiederholt und die

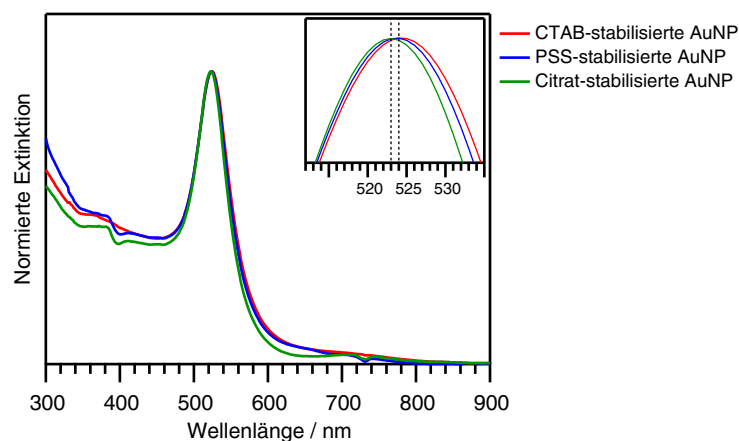


Abb. 42: Normierte Extinktionsspektren der CTAB-stabilisierten ssAuNP, sowie nach Austausch durch PSS und Citrat. Der Ausschnitt zeigt die Blauverschiebung des Maximums der Plasmonenbande der CTAB-ssAuNP von 524 nm nach 523 nm nach dem Austausch durch Citrat-Ionen.

ssAuNP erneut in der gleichen Menge wässriger Citrat-Lösung (5 mM) aufgenommen. Im gemessenen Extinktionspektrum (Abb. 42) ist eine Blauverschiebung der Plasmonenbande der Citrat-stabilisierten NP im Vergleich zu den CTAB-stabilisierten NP zu beobachten. Dieses lässt sich durch die veränderte dielektrische Umgebung um den NP erklären, die aus der schwächer bindenden Citrat-Schicht resultiert. Darüber hinaus ist keine weitere Veränderung im Spektrum zu beobachten, welches darauf schließen lässt, dass es nicht zur Bildung von Aggregaten im Kolloid geführt hat und dieses für die weitere Anwendung stabil ist.

Anschließend wurden C8 funktionalisierte, auf Glas immobilisierte ssAuNP mit CTAB- (in EtOH) bzw. Citrat-stabilisierten ssAuNP (in Wasser), ohne und mit NaBr (15 μ M), inkubiert. Es zeigt sich (Abb. 43), dass es, wie erwartet, nicht zu einer Anbindung der CTAB-stabilisierten ssAuNP kommt. Nach der Zugabe der Citrat-stabilisierten ssAuNP, ist die Desorption der ersten ssAuNP vom Glassubstrat zu beobachten. Die negativ geladenen Citrat-Ionen in der NP-Dispersion lösen an den Kontaktstellen die positiv CTAB-stabilisierten NP von der Oberfläche, wodurch nur wenige erste ssAuNP zurückbleiben. Dies führt zu einer geringeren Extinktion. Trotzdem müsste bei einer erfolgreichen Anbindung die Plasmonenkopplungsbande beobachtet werden. Dies war in keinem der Fälle möglich, daher kann darauf geschlossen werden, dass der Austausch von CTAB durch Citrat nicht bzw. nicht vollständig stattgefunden hatte.

Um den Ligandenaustausch zu verbessern, wurden die ssAuNP weitergehend bis zu vier Mal mit Citrat-Lösung gewaschen. Nach jedem Wasch-Zentrifugationsschritt wurde ein SERS-Spektrum der getrockneten ssAuNP aufgenommen, um die Moleküle, die sich auf der Oberfläche befinden, zu detektieren. Hierzu wurde ein Teil der Probe mit Wasser gewaschen, aufkonzentriert und auf eine Quartz-Oberfläche getropft. Von jeder Probe wurden an unterschiedlichen Stellen zwei SERS-Spektren aufgenommen (Abb. 44). Im Vergleich mit den Raman-Spektren von CTAB und Citrat sind zunächst keine charakteristischen Banden der jeweiligen Verbindungen in den SERS-Spektren zu erkennen. Ebenso kommt es durch die weiteren Waschschrte nur zu geringfügigen Änderungen im Spektrum.

Betrachtet man die SERS-Spektren der CTAB-stabilisierten ssAuNP bzw. nicht-ideal sphärischen Citrat-stabilisierten AuNP, so sind jeweils spezifische Banden zu erkennen (Abb. 45). Bei den CTAB- und den CTAB-stabilisierten ssAuNP ist die Raman-Bande bei 760 cm^{-1} , sowie die

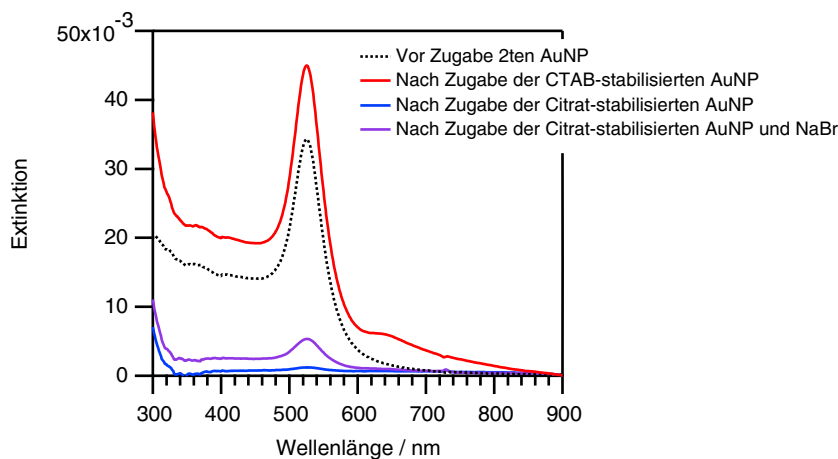


Abb. 43: Extinktionsspektren der Glassubstrate vor Zugabe der zweiten ssAuNP, sowie nach Zugabe von CTAB- (in EtOH) und Citrat-stabilisierte, mit ($15 \mu\text{M}$) und ohne NaBr, ssAuNP (in Wasser).

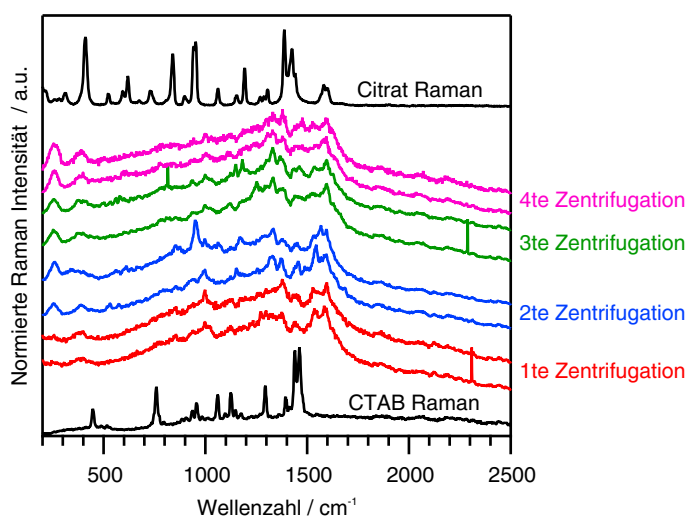


Abb. 44: Normierte SERS-Spektren der ssAuNP nach dem Austausch von CTAB durch Citrat nach jedem Zentrifugations- und Waschschritt. ssAuNP wurden zur Entfernung des Liganden aus dem Überstand vorsichtig mit Wasser gewaschen, aufkonzentriert und auf eine Quartz-Oberfläche getropft. Von den getrockneten NP wurden je zwei Spektren an unterschiedlichen Stellen bei 632.8 nm und $50 \mu\text{W}$ ($3 \times 10 \text{ s}$) gemessen. Normierte Raman-Spektren von Citrat und CTAB gemessen bei 632.8 nm und 14 mW (10 s)

Doppelbande bei 704 bzw. 717 cm^{-1} auch im SERS-Spektrum deutlich vorhanden. Im Falle der Citrat-AuNP kommt es zur Verschiebung der Bande von 674 cm^{-1} im Raman-Spektrum nach 655 cm^{-1} im SERS-Spektrum. Alle Banden, mit Ausnahme der CTAB-SERS-Bande bei 760 cm^{-1} , sind im SERS-Spektrum der Ligandenausgetauschten ssAuNP ebenfalls sichtbar. Daher kann daraus gefolgert werden, dass es auch nach mehrmaliger Zentrifugation zu keinem vollständigen Ligandenaustausch gekommen war. Den Beitrag des PSS-Polymers ist aufgrund der hohen Eigenfluoreszenz im Raman-Spektrum nicht nachvollziehbar, wodurch keine Bandenzuordnung erfolgen konnte. Aufgrund dessen war keine Aussage über die PSS-Moleküle auf der Oberfläche der ssAuNP möglich.

Entsprechend zu den vorgehenden Experimenten kann durch die Zugabe von organischen Lösemitteln (EtOH) und die Erhöhung der Ionenstärke, beispielsweise durch NaBr, die CMC erhöht und die CTAB-stabilisierten NP dadurch destabilisiert werden. Da die ssAuNP in reinem EtOH schon bei sehr geringen NaBr-Konzentrationen zur Aggregation neigen, wurde ein

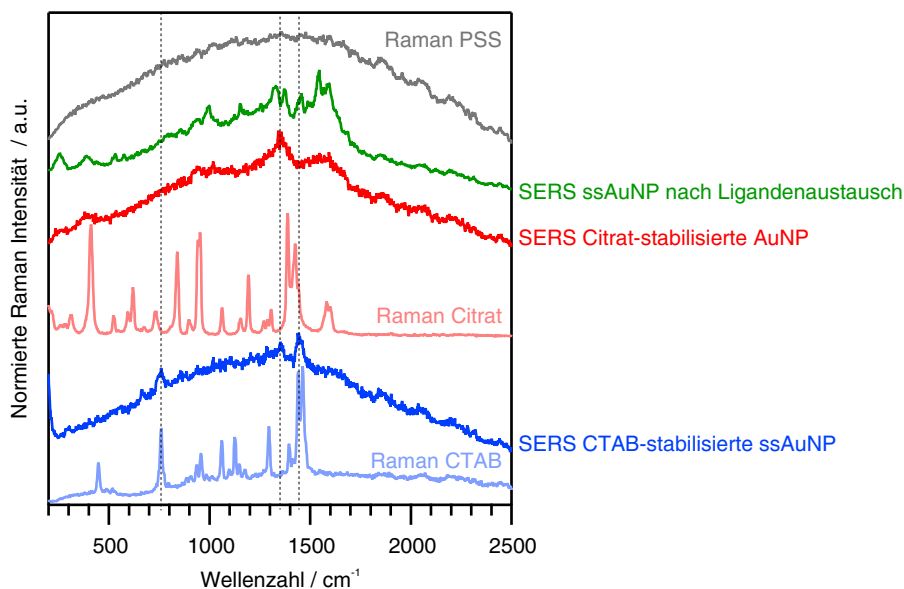


Abb. 45: Normierte SERS-Spektren der ssAuNP nach dem Ligandenaustausch von CTAB durch Citrat, sowie CTAB-ssAuNP und Citrat-AuNP. NP wurden zur Entfernung des Ligandens aus dem Überstand vorsichtig mit Wasser gewaschen, aufkonzentriert und auf eine Quarz-Oberfläche getropft. Von den getrockneten NP wurden je zwei Spektren an unterschiedlichen Stellen bei 632.8 nm und 50 μ W (3×10 s) gemessen. Normierte Raman-Spektren von PSS, Citrat und CTAB gemessen bei 632.8 nm und 20 μ W (3×10 s)

EtOH-Wasser-Verhältnis von vier zu eins verwendet. Durch die Zugabe unterschiedlicher Mengen an NaBr (zwischen 0.1 mM und 1.0 mM) zu einer 1.0 mM Citrat-EtOH-Wasserlösung wurde die Stabilität des Kolloids nach der Inkubation mit PSS untersucht. Die Extinktionsspektren in Abb. 46 zeigen, dass die ssAuNP nur bei einer Konzentration unterhalb von 0.25 mM stabil sind. Oberhalb dieser Konzentration kommt es zur Bildung von NP-Aggregaten, welche mit steigender NaBr-Konzentration zunehmen (Abb. 46 Pfeil).

AuNP neigen häufig bei hohen Anteilen an EtOH in der Dispersion zu Aggregation, wodurch das Kolloid für die weitere Funktionalisierung unbrauchbar wird. Daher ist es vor dem Zentrifugieren der NP-Dispersion zwingend notwendig das Ethanol-Wasser-Verhältnis auf die Seite des Wasser zu verschieben.

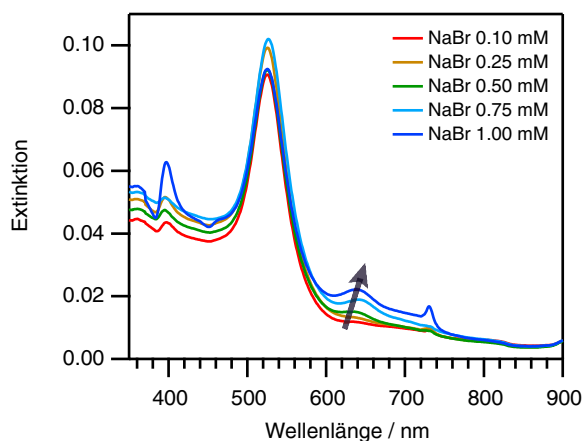


Abb. 46: Extinktionsspektren des Ligandenaustausches von CTAB gegen Citrat bei ssAuNP mit unterschiedlichen Konzentrationen an NaBr (0.10 mM bis 1.00 mM) in EtOH/Wasser (4:1). Pfeil zeigt die zunehmende Aggregation der NP mit steigender NaBr-Konzentration an.

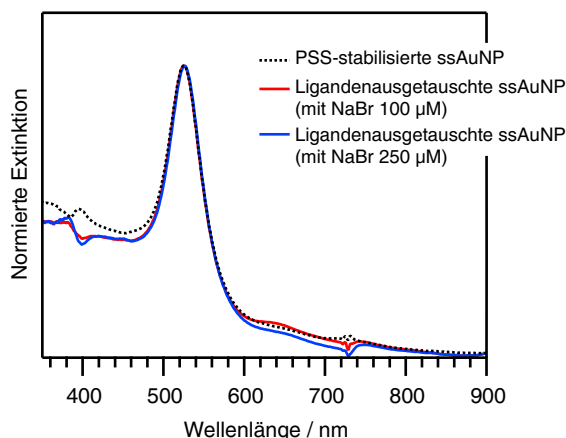


Abb. 47: Normierte Extinktionsspektren der ssAuNP nach Inkubation mit PSS und Ligandenaustausch von CTAB gegen Citrat mit 0.25 mM und 0.1 mM NaBr in EtOH/Wasser (4:1) nach Zentrifugation.

In Abb. 47 wird ersichtlich, dass sowohl die NP-Dispersion mit einer Konzentration von 0.1 mM, sowie 0.25 mM nach dem Waschen stabil ist. Beim Vergleich der SERS-Spektren (Abb. 48) der beiden ssAuNP-Proben mit den vorgehenden, ohne NaBr präparierten NP, ist kein signifikanter Unterschied in den Spektren zu erkennen.

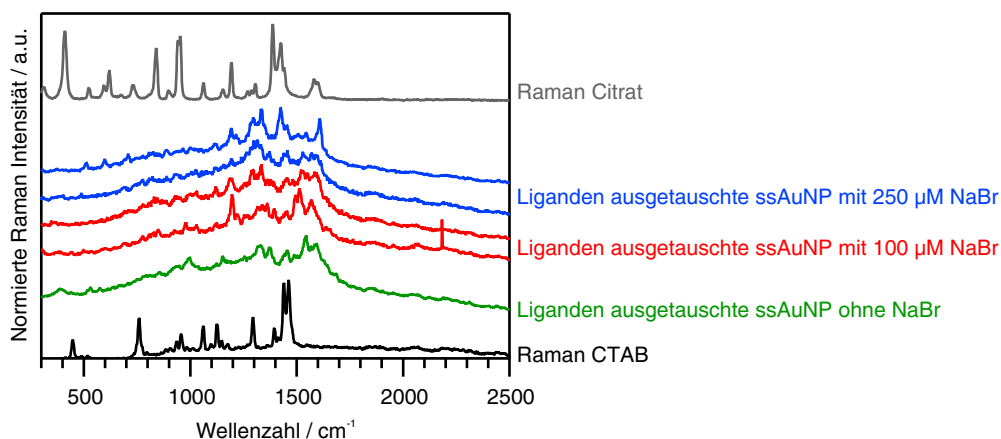


Abb. 48: Normierte SERS-Spektren der ssAuNP nach dem Ligandenaustausch von CTAB durch Citrat, mit 0.25 mM, 0.1 mM und ohne NaBr. NP wurden zur Entfernung des Liganden aus dem Überstand vorsichtig mit Wasser gewaschen, aufkonzentriert und auf eine Quartz-Oberfläche getropft. Von den getrockneten NP wurden je zwei Spektren an unterschiedlichen Stellen bei 632.8 nm und 50 µW (3×10 s) gemessen. Normierte Raman-Spektren von Citrat und CTAB gemessen bei 632.8 nm und 14 mW (3×10 s)

Ferner wurde die Anbindung dieser ssAuNP an C8-funktionalisierte ssAuNP untersucht. In den Extinktionsspektren (Abb. 49) der beiden Proben, die jeweils mit den Liganden-ausgetauschten ssAuNP mit 0.1 mM (oben links), bzw. 0.25 mM NaBr (oben rechts) inkubiert wurden, ist keine Änderung im Spektrenverlauf zu beobachten. Die REM-Aufnahme der, mit 0.1 mM NaBr behandelten, ssAuNP zeigt zwar zwei Dimere, jedoch stammen diese mit hoher Wahrscheinlichkeit aus der zufälligen Adsorption der ersten ssAuNP auf dem Glassubstrat.

Es konnte somit gezeigt werden, dass es möglich ist, CTAB gegen Citrat-Moleküle auf der Oberfläche der ssAuNP auszutauschen, jedoch nicht vollständig. Aus den SERS-Messungen (Abb. 44, 45 und 48) ist ersichtlich, dass neben den Raman-Banden von Citrat noch

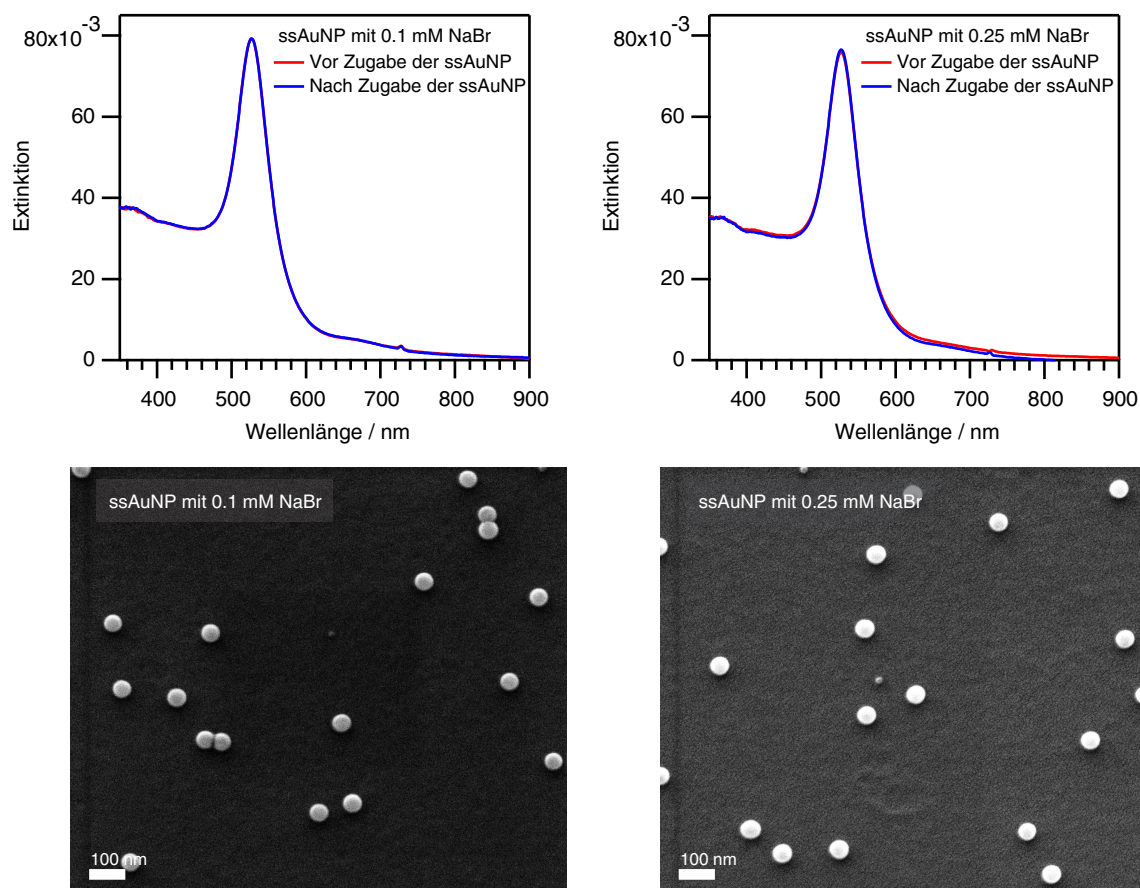


Abb. 49: Extinktionsspektren der Glassubstrate vor und nach der Zugabe der Liganden-ausgetauschten ssAuNP mit 0.1 mM (oben links) und 0.25 mM NaBr (oben rechts) mit C8-Linker und REM-Aufnahmen der jeweiligen Proben.

Rückstände von CTAB auf den NP vorhanden sind. Somit konnte unter den hier verwendeten Reaktionsbedingungen nur ein partieller Austausch stattfinden. Im Vergleich zu den in der Literatur verwendeten AuNR besitzen die hier verwendeten 50 nm ssAuNP eine geringere Oberflächenkrümmung, woraus eine dichtere Organisation der CTAB-Moleküle auf der NP-Oberfläche resultiert. Dies erschwert die Destabilisation und Auflösung der molekularen Doppelschicht.

4.3.5 Destabilisierung der CTAB-Doppelschicht

Weitergehend ist bekannt, dass Mischungen aus Wasser und Acetonitril (MeCN) die CTAB-Doppelschicht aufbrechen und zerstören können, so dass nur eine CTAB-Monolage auf der Partikeloberfläche zurückbleibt, welche durch Moleküle mit Thiol- und Aminogruppen durchdrungen werden kann. Wu *et al.* stellten so Kern-Satelliten-Strukturen (CS, *core-satellite nanostructure*) aus ssAuNP her, die entweder durch 4-Aminothiophenol (ATP) oder C8 verknüpft waren. [96]

Analog wurden auf Glas immobilisierte 50 nm ssAuNP mit C8 (1 mM), gelöst in MeCN, funktionalisiert und anschließend mit kleinen 14 nm Citrat-stabilisierten AuNP in Wasser (2.3 nM) inkubiert. Im Extinktionsspektrum (Abb. 50, oben links) ist nach der Inkubation mit kleinen AuNP eine Plasmonenkopplungsbande (SPC-Bande, *surface plasmon coupling band*) bei 607 nm zu

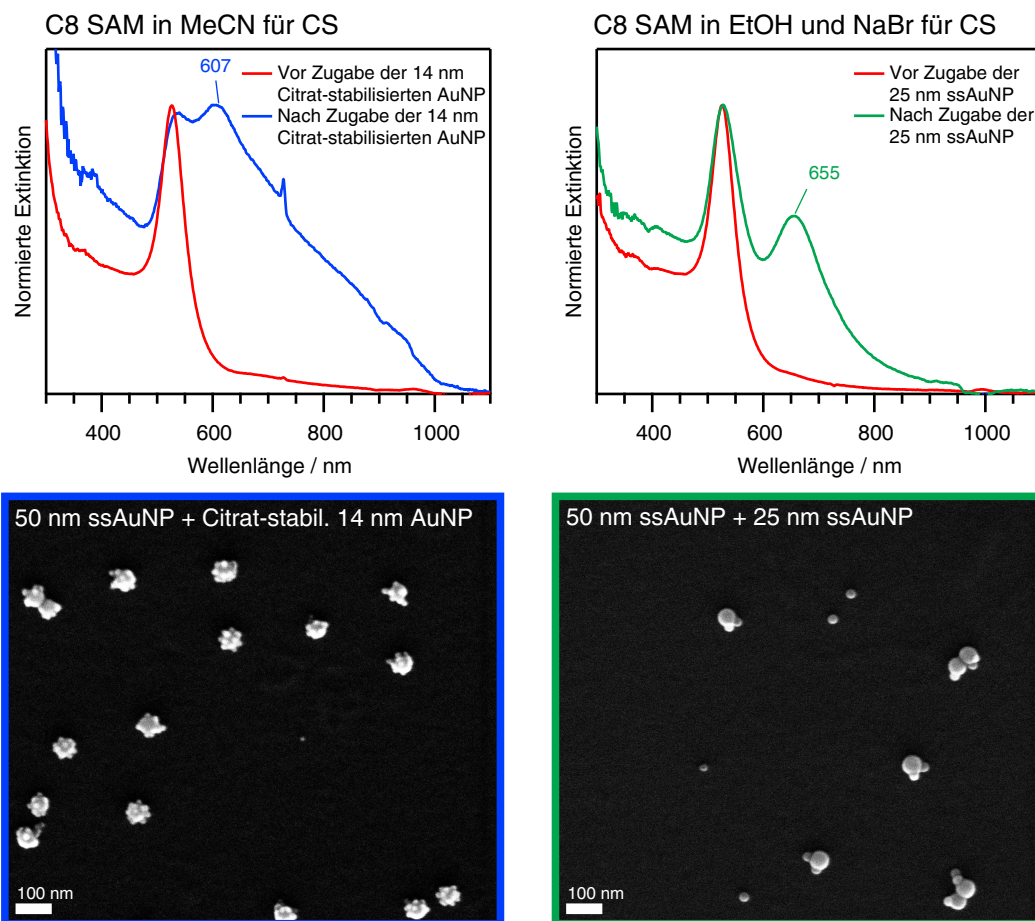


Abb. 50: Normierte Extinktionsspektren vor und nach der Inkubation von 14 nm Citrat-stabilisierten AuNP in Wasser auf C8-funktionalisierten ssAuNP in MeCN (oben links) und 25 nm CTAB-stabilisierten AuNP in Wasser/MeCN (1:3) auf C8-funktionalisierten ssAuNP in EtOH mit NaBr (1 mM) (oben rechts). SEM-Aufnahmen der jeweiligen Proben nach der Inkubation (unten).

erkennen. Daraus lässt sich schließen, dass es zu einer effektiven Ausbildung der C8-Monolage auf dem ersten ssAuNP in MeCN gekommen ist und die 14 nm AuNP an diese binden können. Dies ist auch in den REM-Aufnahmen (Abb. 50, unten links) zu sehen. Um die Anbindung von kleinen CTAB-stabilisierten ssAuNP (25 nm) zu überprüfen, wurden diese mit MeCN verdünnt, dass die Mischung aus Wasser und MeCN einem Verhältnis von 1:3 entsprach. In diese wurden auf einem Glassubstrat immobilisierte, mit C8-funktionalisierte ssAuNP gegeben (C8-SAM-Ausbildung in EtOH mit NaBr (1 mM)). Das Extinktionsspektrum (Abb. 50, oben rechts) weist eine SPC-Bande bei 655 nm auf. Weitergehend ist in der REM-Aufnahme (Abb. 50, unten rechts) deutlich zu erkennen, dass es zur Ausbildung von Kern-Satelliten-Strukturen gekommen ist. Je Kern sind mindestens zwei kleine ssAuNP gebunden.

Im Anschluss wurde versucht unter gleichen Bedingungen Dimere herzustellen. Hierzu wurde auf dem ersten ssAuNP ein SAM aus C8, zum einen in MeCN und zum anderen in EtOH mit NaBr (1 mM), ausgebildet und mit dem zweiten 50 nm ssAuNP in Wasser/MeCN (1:3) inkubiert. In beiden Extinktionsspektren (Abb. 51) ist nach der Zugabe der zweiten ssAuNP keine SPC-Bande zu erkennen. Daraus lässt sich folgern, dass die hier verwendete Mischung aus Wasser und MeCN bei kleinen CTAB-stabilisierten AuNP, aufgrund der größeren Krümmung der NP-Oberfläche, effektiv genug ist, um die Doppelschicht aufzubrechen. Somit können die kleinen NP an die Thiol-funktionalisierten ersten ssAuNP anbinden, die größeren jedoch nicht.

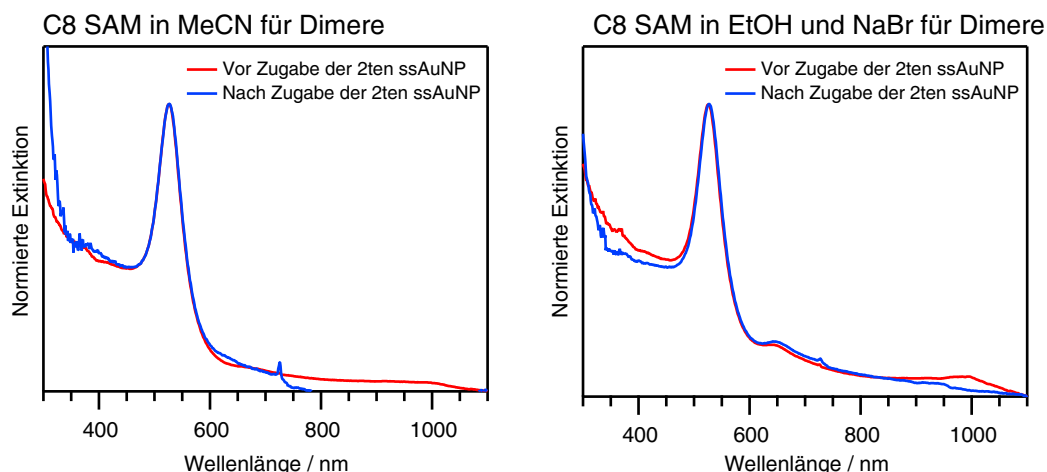


Abb. 51: Normierte Extinktionsspektren vor und nach der Inkubation mit zweiten ssAuNP (20 pM) in Wasser/MeCN (1:3). SAM-Ausbildung mit C8 in MeCN (links) und EtOH mit NaBr (1 mM).

Bei einem höheren Mischungsverhältnis von 1:9 an Wasser/MeCN, aggregiert die Dispersion des zweiten ssAuNP genau wie bei einem Verhältnis von 1:3 (Abb. 52, rechts), in beiden Fällen ist die Bildung größerer Cluster auf dem Glassubstrat zu beobachten (Abb. 52, links). Dies ist durch die breite Plasmonenbande oberhalb von 650 nm zu erkennen. Durch die Zugabe von NaBr zur zweiten ssAuNP-Dispersion gewinnt diese deutlich an Stabilität und es kommt bei der Inkubation nicht zur Aggregation der NP (Abb. 52, rechts). Des Weiteren ist im Extinktionsspektrum (Abb. 52, links) eine SPC-Bande bei ca. 680 nm zu detektieren, welches auf die Bildung von Dimeren hinweist. Die breit auslaufende SPC-Bande deutet darauf hin, dass auch hier die ssAuNP auf der Glasoberfläche aggregiert sind.

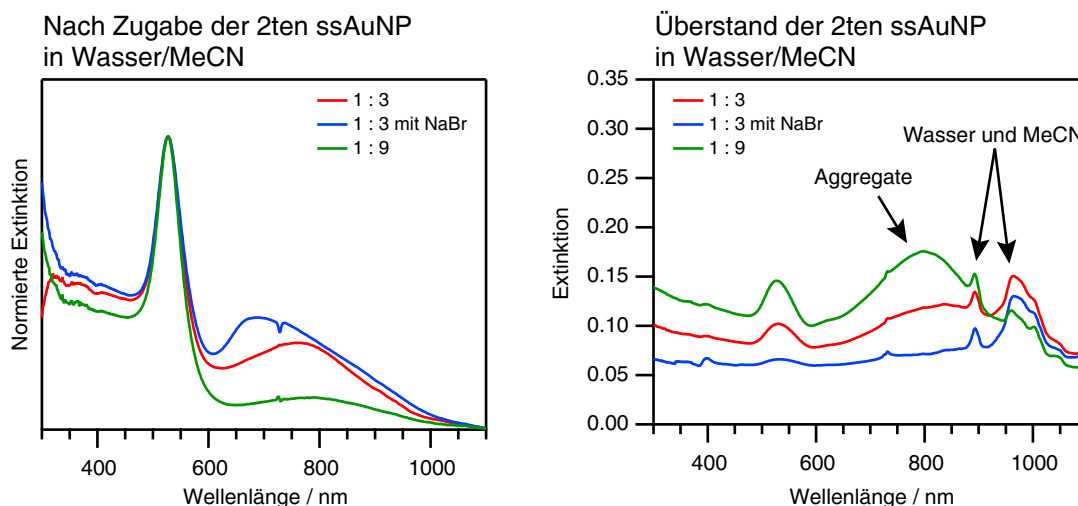


Abb. 52: Normierte Extinktionsspektren nach der Inkubation mit zweiten ssAuNP in Wasser/MeCN-Mischungen mit einem Verhältnis von 1:3 und 1:9 und mit NaBr (100 µM) von 1:3 (links). Extinktionsspektren der Überstände der zweiten ssAuNP-Dispersion in den jeweiligen Wasser/MeCN-Mischungen nach der Inkubation, ohne Hintergrundkorrektur (rechts).

Die Dispergierung der ssAuNP in reinem MeCN führt zum aufbrechen der CTAB-Doppelschicht und zur Bildung kleiner Aggregate im Kolloid (Abb. 53, rechts), aber eine Anbindung an die Thiol-funktionalisierten ersten ssAuNP ist nicht möglich (Abb. 53, links). Wird hingegen

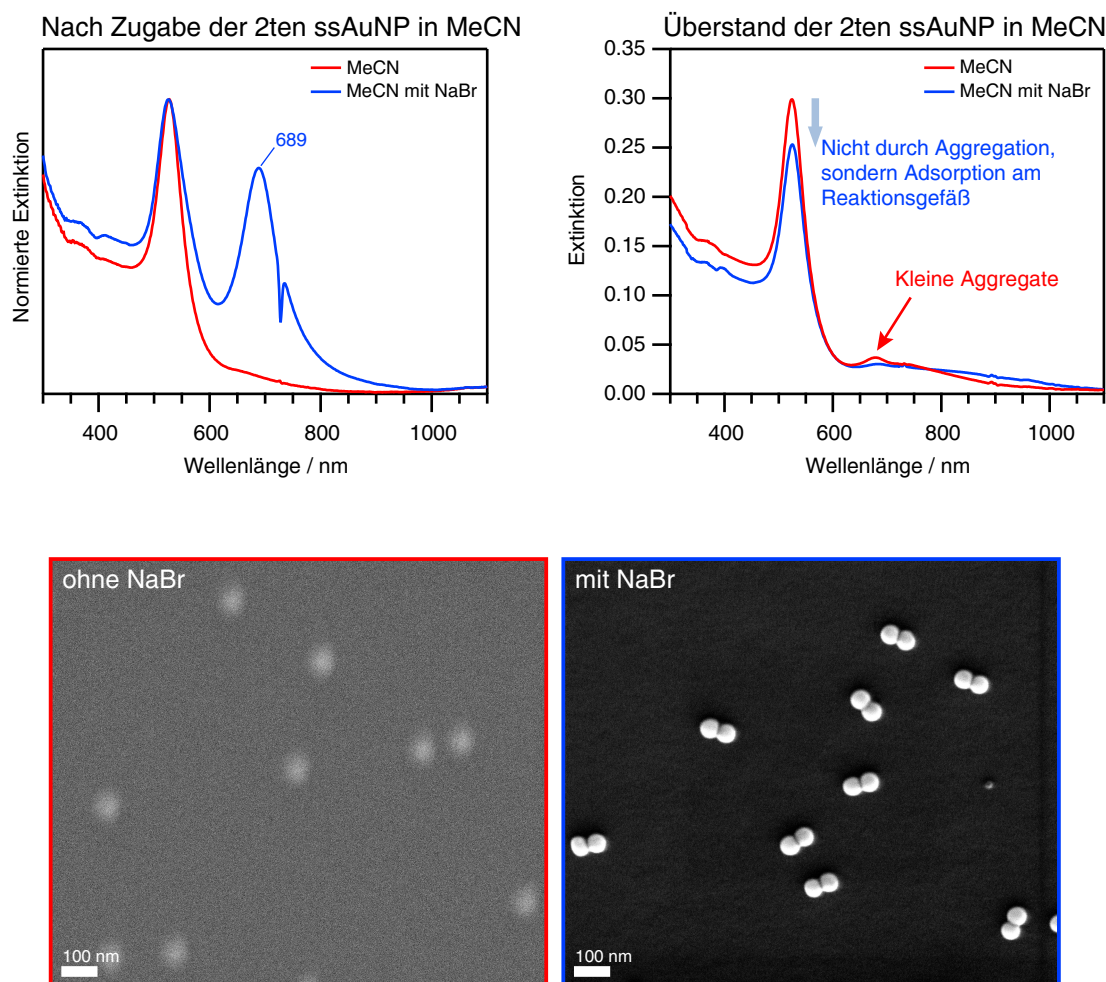


Abb. 53: Normierte Extinktionsspektren der C8-ssAuNP-funktionalisierten Glassubstrate nach der Inkubation mit zweiten ssAuNP dispergiert in MeCN mit ($100\ \mu\text{M}$) und ohne NaBr. Bei der Probe mit NaBr ist die Dimer-SPC-Bande bei 689 nm zu beobachten (oben links). Extinktionsspektren der Überstände der zweiten ssAuNP-Dispersion. Durch die Zugabe von NaBr kommt es zur Adsorption des Kolloids am Reaktionsgefäß und ohne NaBr zu Bildung von kleinen Aggregaten (oben rechts). REM-Aufnahmen der Glassubstrate nach der Inkubation (unten). Durch einen technischen Fehler im verwendeten Jasco UV-Vis-Extinktionsspektrometer ist bei 730 nm eine Senke zu erkennen, welche nicht von der Probe selbst stammt.

eine $100\ \mu\text{M}$ NaBr-MeCN-Lösung verwendet, in dem die ssAuNP dispergiert werden, ist eine Anbindung der zweiten ssAuNP zu beobachten. Das Extinktionsspektrum (Abb. 53, links) zeigt bei 689 nm die SPC-Bande der Dimere und in Abb. 53 (unten) ist eine REM-Aufnahmen des hergestellten Substrats dargestellt. In der Probe, die mit NaBr hergestellt wurde, sind vornehmlich Dimere zu erkennen. Somit konnte zum ersten Mal demonstriert werden, dass es möglich ist ssAuNP funktionalisiert mit einem SAM aus C8 kontrolliert zu assemblieren.

Aus den Experimenten konnten unterschiedliche Parameter ermittelt werden, welche die Stabilität eines CTAB-funktionalisierten ssAuNP-Kolloids beeinflussen. Diese sind in Abb. 54 schematisch zusammengefasst. Daraus lässt sich schließen, dass MeCN nötig ist, um die CTAB-Doppelschicht aufzubrechen. Das Kolloid ist dabei stabil und neigt, wenn nur zu einem sehr geringem Maße, zur Bildung von Clustern (Abb. 54, oben links). In Gemischen aus Wasser und MeCN nehmen die hydrophoben Wechselwirkungen durch das Wasser zwischen den destabilisierten NP zu und es kommt zur Aggregation (oben rechts). Dispergiert man die CTAB-stabilisierten NP

hingegen in einem Gemisch aus MeCN und geringen Mengen an NaBr ist keinerlei Clusterbildung zu beobachten (unten links). Die Bromid-Ionen vermindern dabei die Abstoßung der positiv geladenen Kopfgruppen der CTAB-Moleküle.

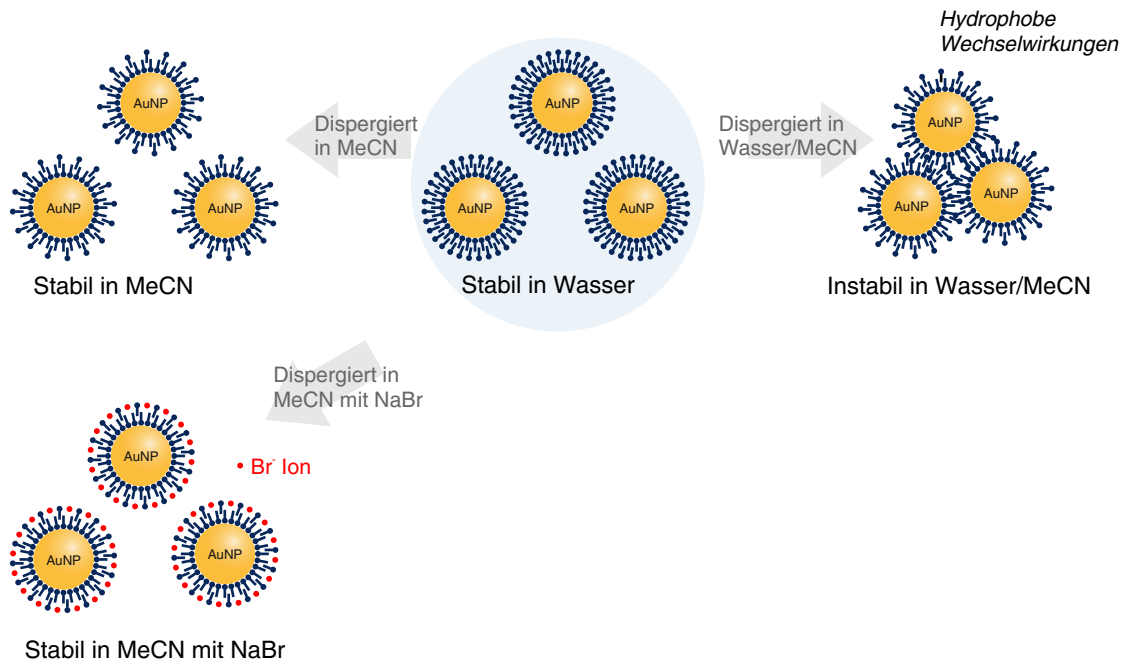


Abb. 54: Schematische Darstellung des Verhaltens CTAB-stabilisierter ssAuNP in reinem MeCN, Wasser/MeCN- und MeCN/NaBr-Mischungen.

4.3.6 Einfluss der NaBr-Konzentration

Um die optimale NaBr-Konzentration zu finden, bei der die CTAB-Doppelschicht in MeCN soweit degeneriert, dass der Abstand zwischen den beiden NP nur durch die verwendeten Alkyldithiol-Moleküle bestimmt und nicht durch zurückbleibende CTAB-Moleküle beeinflusst wird, wurde die Stabilität der ssAuNP in MeCN bei unterschiedlichen NaBr-Konzentration (zwischen

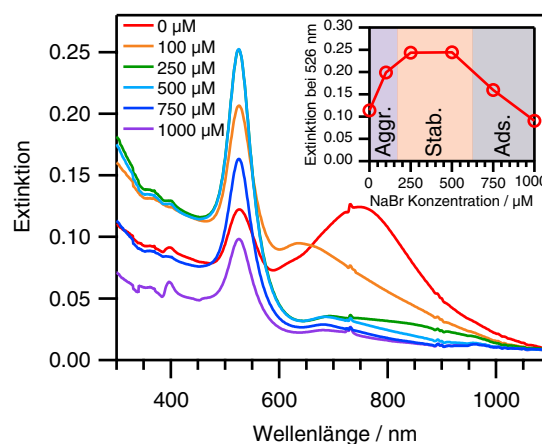


Abb. 55: Extinktionsspektren von ssAuNP-Dispersionen (20 pM) in MeCN mit unterschiedlichen NaBr-Konzentrationen zwischen 0 μ M und 1000 μ M. Auftragung der Extinktion bei 526 nm (Maximum der Plasmonenbande) gegen die verwendete NaBr-Konzentration.

100 μM und 1000 μM) untersucht. Bei einer Konzentration von 0 μM bis 100 μM kommt es zur Aggregation der NP (Abb. 55). In einem Bereich zwischen 750 μM bis 1000 μM sind die ssAuNP zwar stabil, es kommt aber zur Adsorption an die Oberfläche des Reaktionsgefäßes woraus die geringere Extinktion der Plasmonenbande resultiert. Nur im Bereich zwischen 250 μM und 500 μM scheinen die NP stabil zu sein.

Somit dient NaBr als Stabilisator für die ssAuNP und als wirkungsvoller Entferner der CTAB-Schicht, welche sich um die NP herum befindet. Jedoch führen zu hohe Mengen an NaBr aufgrund der veränderten Oberflächenladung zur Adsorption der NP an den Wänden der verwendeten Kunststoff-Reaktionsgefäße.

Werden die ersten mit C8-funktionalisierten ssAuNP mit zweiten ssAuNP dispergiert in MeCN mit je 100 μM , 500 μM oder 1000 μM NaBr inkubiert, ist bei den letzten beiden Konzentrationen eine neue dritte SPC-Bande bei 741 nm im Extinktionsspektrum (Abb. 56, oben links) zu beobachten. Betrachtet man die REM-Aufnahmen der Proben, ist zu erkennen, dass bei einer Konzentration von 100 μM (Abb. 56, oben rechts) vornehmlich Dimere entstanden sind. Die Ausbeute an Dimeren, die aus fünf, an unterschiedlichen Positionen, aufgenommenen REM-Aufnahmen ermittelt wurde, beträgt 89 % (Abb. 57). Bei einer NaBr-Konzentration von 500 μM (Abb. 56, unten links) sind überwiegend Trimere zu erkennen, woraus sich die SPC-Bande bei 741 nm

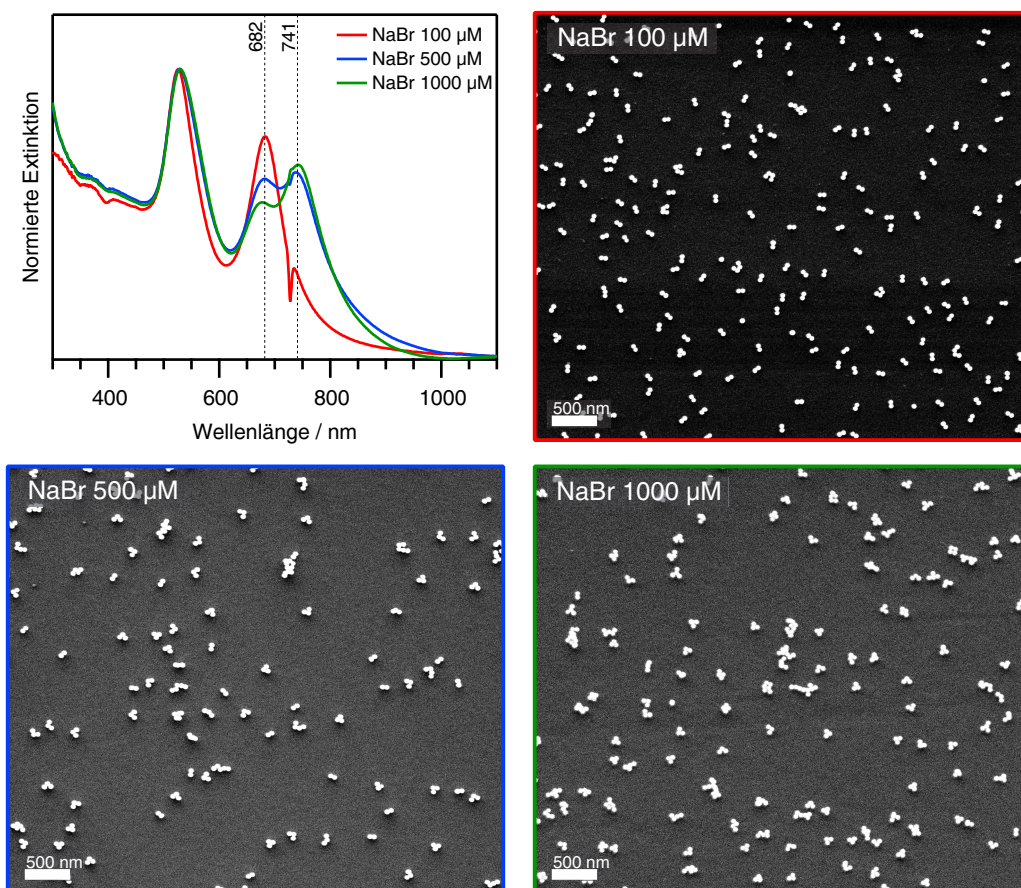


Abb. 56: Normierte Extinktionsspektren der C8-ssAuNP-funktionalisierten Glassubstrate nach der Inkubation mit zweiten ssAuNP, dispergiert in MeCN, mit je 100 μM , 500 μM oder 1000 μM NaBr. SPC-Bande bei 682 nm weist auf die Bildung von Dimeren hin (oben links). REM-Aufnahmen der Glassubstrate nach der Inkubation.

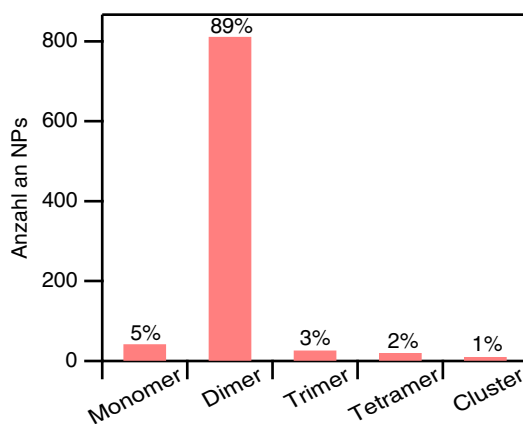


Abb. 57: Histogramm der Ausbeute an Dimeren bei der Präparation der Probe mit $100\ \mu\text{M}$ NaBr. Die Ausbeute wurde durch fünf REM-Aufnahmen mit insgesamt 909 unterschiedlichen NP bestimmt.

ergibt. Hingegen kommt es bei $1000\ \mu\text{M}$ NaBr zur Bildung von Timern und Tetramern sowie größeren Clustern (Abb. 56, unten rechts). Somit kann durch die eingesetzte Menge an NaBr bei der ssAuNP-Assemblierung gezielt die Größe der benötigten Nanostrukturen kontrolliert und beeinflusst werden.

4.3.7 Abstandskontrolle zwischen den ssAuNP im Dimer

Aufgrund der Homogenität und hohen Ausbeute der ssAuNP-Dimere bieten diese die optimale Plattform, um die Abstandsabhängigkeit und die damit verbundene plasmonische Kopplung der beiden NP zu untersuchen. Die ssAuNP wurden mit unterschiedlich langen Alkyldithiolen funktionalisiert. Durch die Länge der Alkylkette kann im sub-Nanometerbereich präzise der Abstand zwischen den beiden NP reguliert werden. Hierzu wurde der erste NP jeweils mit 1,2-Ethandithiol (C2), 1,4-Butandithiol (C4), 1,6-Hexandithiol (C6), 1,8-Octandithiol (C8), 1,10-Decandithiol (C10) oder 1,16-Hexadecyldithiol (C16) funktionalisiert, mit dem zweiten ssAuNP inkubiert und das Extinktionsspektrum der adsorbierten ssAuNP auf der Glasoberfläche gemessen. Im Spektrum (Abb. 58, links) markiert sind jeweils die Maxima der

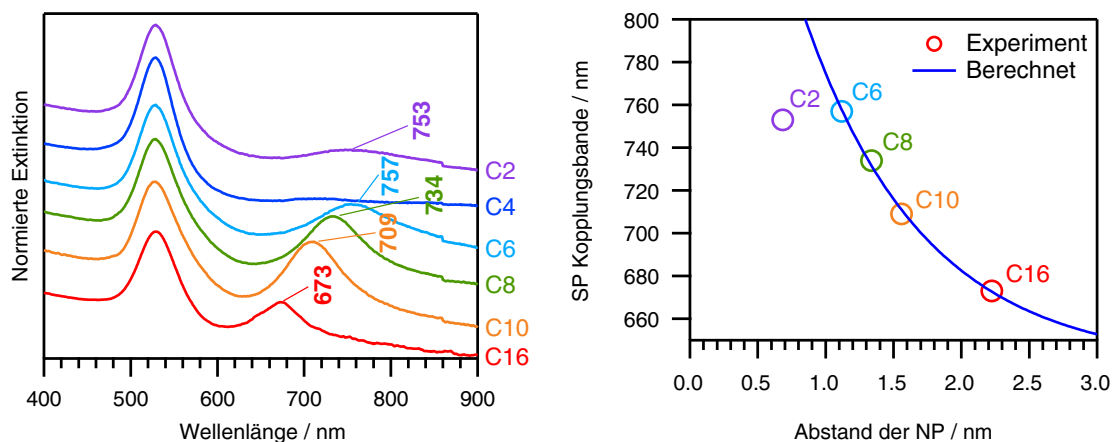


Abb. 58: Normierte Extinktionsspektren von ssAuNP-Dimeren mit unterschiedlichen Alkyldithiol-Linkern (links). Auftragung der SPC-Bande gegen den Abstand der beiden NP im Dimer, welche durch die Länge des Brückenmoleküls bestimmt wird ^[52] (rechts).

Tab. 2: Abstand der beiden NP in einem Dimer entsprechend der Länge des Alkyldithiol-SAMs, berechnet mittels Dichtefunktionaltheorie (DFT). ^[52]

Alkyldithiol	Abstand der NP im Dimer [nm]
C2	0.683
C4	0.899
C6	1.118
C8	1.338
C10	1.560
C16	2.224

SPC-Kopplungsbande. Dabei ist zu erkennen, dass es möglich war, mit allen hier verwendeten Dithiolen, mit Ausnahme von C4, Dimere herzustellen. Warum es bei dem C4-Linker zu keiner Anbindung eines zweiten NP gekommen ist, konnte nicht ermittelt werden. Auch eine Erhöhung der NaBr-Konzentration (bis 500 μM) führt zum selben Ergebnis.

Im Spektrum ist mit einer zunehmenden Kettenlänge eine Rotverschiebung der SPC-Bande zu beobachten. Dieser Verlauf ist konsistent mit den bereits bekannten experimentellen Ergebnissen und theoretischen Berechnungen. ^[19] Durch einen geringeren Abstand zwischen beiden NP, d.h. kürzere Länge der Alkylkette, kommt es zu einer stärkeren plasmonischen Kopplung. Da der Abstand der beiden NP mittels Elektronenmikroskopie zum einen im sub-Nanometerbereich (Änderung von zwei Methylgruppen in der Kettenlänge etwa 0.2 nm) nur sehr unpräzise bestimmt werden kann und zum anderen die Veränderung der Morphologie zwischen den NP durch den Elektronenstrahl groß ist, wodurch es zum Zusammenwachsen der NP kommt, wurde die Dicke des Alkyldithiol-SAMs aus Dichtefunktionaltheorieberechnungen (DFT) verwendet. Die Länge der jeweiligen Alkyldithiol-Linker sind in Tab. 2 zusammengefasst. ^[52] Der Abstand wurde hier in der all-*trans*-Konfiguration der Alkylkette berechnet.

Die Betrachtung des Maximums der Kopplungsbande in Abhängigkeit vom Abstand zwischen den beiden Partikeln (Abb. 58, rechts) zeigen die Datenpunkte oberhalb von 1 nm, wie erwartet, einen exponentiellen Verlauf, was durch die berechnete Kurve (blau) dargestellt ist. Dieser Verlauf ist beständig mit dem klassischen elektrodynamischen Modell. ^[19, 20, 29, 38, 52, 53, 56, 110] Bei C2 kommt es zu Tunnel-Effekten und somit zu einem Ladungsaustausch. Für die Beschreibung der Blauverschiebung der Plasmonenkopplungsbande bei sehr geringen Abständen müssen daher quantenmechanische Effekte in den Simulationen berücksichtigt werden.

4.3.8 Einzelpartikelmessungen

4.3.9 Ideale Dimere

Neben der Charakterisierung der hergestellten Dimere auf Ensemblesniveau in Form von Küvettenexperimenten wurden weitergehend Einzelpartikelmessungen durchgeführt, um die optischen Eigenschaften von einzelnen idealen ssAuNP-Dimeren mit einzelnen nicht-idealen AuNP-Dimeren zu vergleichen. Die auf dem Glassubstrat adsorbierten ssAuNP-Dimere wurden hierzu zur Stabilisierung weiter funktionalisiert und vom Substrat herunter gelöst. Im folgenden ist die Assemblierungsmethode und die anschließende Funktionalisierung zusammengefasst. Der erste ssAuNP wird durch elektrostatische Wechselwirkung der positiv

geladenen CTAB-Doppelschicht in Abb.59, in dunkelblau dargestellt, auf das negativ geladene Glassubstrat gebunden. Die CTAB-Moleküle, welche nicht zur Bindung zur Oberfläche beitragen, werden durch Alkyldithiol-Moleküle, in grün, ersetzt. Dann erfolgt die Anbindung des zweiten ssAuNP. Die CTAB-Moleküle des zweiten NP werden durch 11-Mercaptoundecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid (MUTMAB) (hellblau) funktionalisiert und in EtOH (mit 10 μ M MUTMAB) mit Ultraschall behandelt, wodurch es zur Desorption der Dimere von der Glasoberfläche kommt. Für die Einzelpartikelmessungen wurde 1,8-Octandithiol (C8) als Brückenmolekül verwendet. Die nach dem Ablösen der Dimere erhaltene Dispersion wurde anschließend für die Einzelpartikelmessungen auf einen Objektträger getropft.

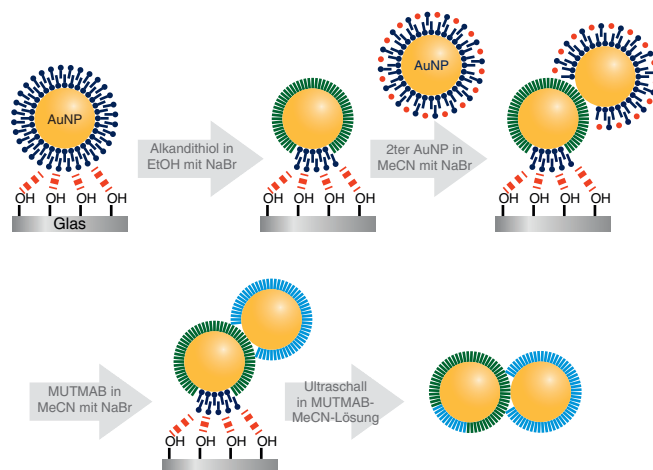


Abb. 59: Schema zur Assemblierung von zwei ssAuNP zu einem Dimer. Der erste ssAuNP adsorbiert aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen der positiv geladenen CTAB-Doppelschicht (dunkelblau) auf die negativ geladene Glasoberfläche. In ethanolischer Lösung mit geringen Mengen NaBr (rot) wird eine SAM von Alkyldithiolen (grün) auf der Oberfläche der AuNP ausgebildet werden. Um das gebildete Dimer von der Oberfläche abzulösen, werden alle freien, nicht mit einer Thiol-funktionalisierten Stelle durch MUTMAB (hellblau) geschützt und das Dimer wird anschließend durch Ultraschall-Behandlung in EtOH dispergiert.

Das Extinktionsspektrum der Dimere wurde auf der Glasoberfläche, als auch in Dispersion gemessen (Abb.60, links). Dabei ist eine Blauverschiebung der longitudinalen Plasmonenkopplungsbande von 735 nm für Dimere auf Glas nach 726 nm bei der dispergierten Probe zu beobachten. Dies lässt sich durch die Änderung der dielektrischen Umgebung von Glas zu EtOH erklären. Ebenso ist eine geringe Blauverschiebung der transversalen Plasmonenkopplungsbande erkennbar. In Abb.60 (rechts) ist eine TEM-Aufnahme der dispergierten Dimere gezeigt, in der zu erkennen ist, dass alle Dimere eine hohe Homogenität in Form und Größe besitzen.

Von den hergestellten ssAuNP Monomeren sowie Dimeren wurden Einzelpartikel-Streuspektren gemessen. Hierzu wurden die jeweiligen Nanostrukturen auf einen Objektträger getropft und an der Luft getrocknet. Die Proben wurden mit dem in Kapitel 3.4 beschriebenen Dunkelfeldaufbau vermessen. Anhand des Farb-Dunkelfeld-Streubildes und der Intensität der streuenden Objekte kann zwischen den einzelnen Nanostrukturen (Monomer, Dimer oder Trimer) unterschieden werden. Von je 20 individuellen Strukturen wurden die Streuspektren bestimmt, sieben dieser Spektren der ssAuNP-Monomere (links) und C8-verbrückte -Dimere (rechts) sind repräsentativ in Abb. 61 dargestellt. Die grauen Linien repräsentieren die Hintergrund korrigierten Streuspektren. In rot sind die nach Savitzky-Golay geglätteten Spektren gezeigt, durch die Glättung der

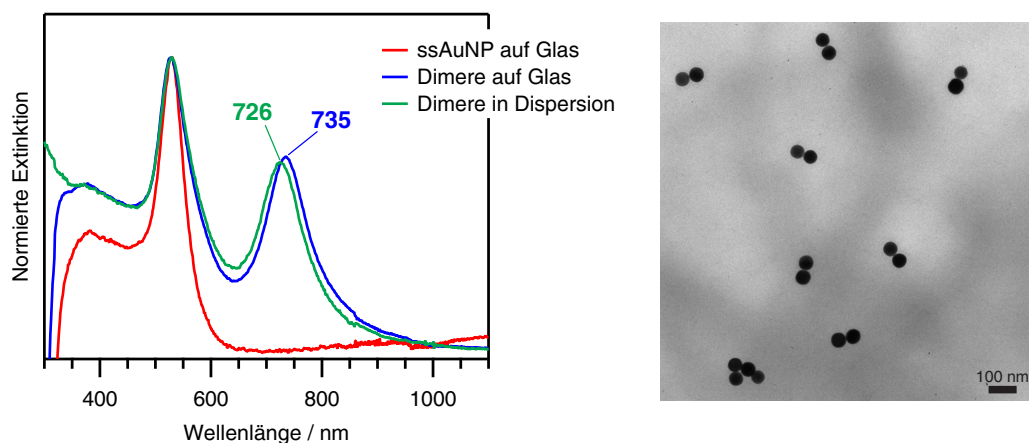


Abb. 60: Normiertes Extinktionsspektrum des ersten ssAuNP (rot), sowie von C8-verbrückten Dimeren auf Glas (blau) und in Dispersion (grün) (links). TEM-Aufnahme der MUTMAB-stabilisierten Dimere nach der Desorption von der Glasoberfläche (rechts).

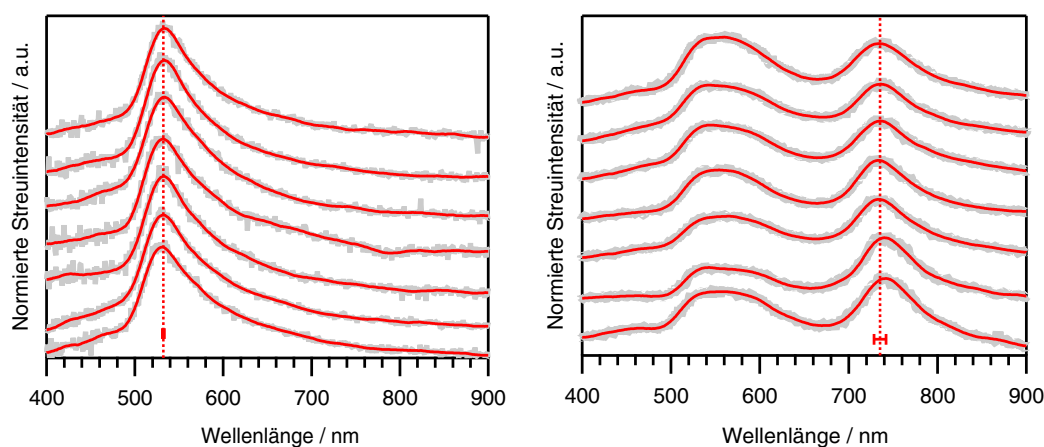


Abb. 61: Normierte Streuspektren der ssAuNP Monomere (links) und C8-verknüpften Dimere (rechts). Die graue Linie repräsentiert das gemessene Hintergrund korrigierte Streuspektrum der Nanostuktur. In rot sind die nach Savitzky-Golay geglätteten Spektren gezeigt. Die gestrichelte vertikale Linie entspricht dem Mittelwert aus je 20 gemessenen Streuspektren, sowie horizontal dargestellt die entsprechende Standardabweichung.

Spektren lassen sich die Positionen der Maxima genau bestimmen, da dies aufgrund des hohen Fluktuation/Rauschen des Signals sonst nicht eindeutig möglich ist.

Die Streuspektren der ssAuNP-Monomere (links) und Dimere (rechts), in Abb. 61 dargestellt, weisen eine hohe spektrale Uniformität auf. Die Standardabweichung für die Wellenlänge des Maximums der Streubande der Monomere liegt bei 1 nm. Die longitudinale Kopplungsbande der Dimere bei 735 nm zeigt ebenfalls eine geringe Standardabweichung von 6.7 nm. Die Homogenität der Streuspektren bestätigen die einheitliche Morphologie und glatte Oberfläche der zuvor dargestellten REM-Aufnahmen. Neben der reproduzierbaren gleichen Morphologie der ssAuNP bestimmt auch der Abstand der NP zueinander maßgeblich die Position der Plasmonenkopplungsbande. Die C8-Linker bilden auf den ssAuNP eine stabile SAM aus und binden kovalent an beide NP. Dadurch kann der Abstand der ssAuNP auf sub-Nanometerskala kontrolliert werden.

Des Weiteren ist eine breite Doppelbande zwischen 500 nm und 600 nm im Dimerspektrum detektierbar, wohingegen in den Monomerspektren nur ein Maximum zu erkennen ist. Daher

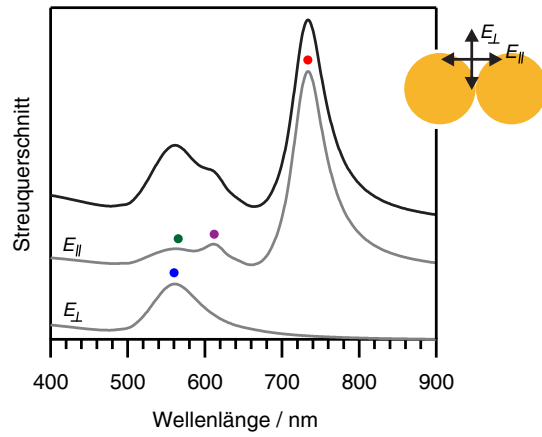


Abb. 62: Simulierte Streuspektren eines Dimermodells. Die beiden grauen Linien zeigen das Spektrum bei senkrechter (E_{\perp}) und paralleler Anregung (E_{\parallel}) zur Dimerachse. Die schwarze Linie ist die Summe aus beiden, die einer unpolarisierten Anregung entspricht. Die farbigen Kreise markieren markante Positionen im Streuspektrum.

wurden FDTD-Rechnungen (*finite-difference time-domain*) für ein Dimer-Modell bestehend aus zwei 50 nm sphärische Kugeln durchgeführt (Abb. 62). Da bei den Messungen unpolarisiertes Licht verwendet wurde, mit der FDTD-Methode jedoch nur ein Polarisationswinkel des einfallenden Lichts erlaubt ist, wurden die Streuspektren bei senkrechter (E_{\perp}) und paralleler Anregung (E_{\parallel}) zur Dimerachse berechnet (grau). Die Anregung mit unpolarisiertem Licht ergibt sich aus der Superposition der beiden Spektren (schwarz). Die farbigen mit jeweils einem grünen, lila, roten und blauen Kreis markierten Maxima können entsprechend den folgenden Plasmon-Kopplungsbanden zugeordnet werden: longitudinalen bindenden Oktupol-Oktupol (LOP, *longitudinal bonding octupole-octupole plasmon*), Quadrupol-Quadrupol (LQP, *longitudinal bonding quadrupole-quadrupole plasmon*), Dipol-Dipol (LDP, *longitudinal bonding dipole-dipole plasmon*) und transversalen antibindenden Dipol-Dipol (TDP, *transverse antibonding dipole-dipole plasmon*). Obwohl einzelne 50 nm NP keine optisch detektierbaren Oberflächenplasmonenresonanzen höherer Ordnung aufweisen, sind diese als Kopplungsbande zu beobachten. Sowohl in der Simulation als auch im Experiment sind die LOP und LQP deutlich zu erkennen, da die dipolare Oszillatorstärke zur Quadrupol- und Oktupolmode beiträgt.

4.3.10 Nicht-ideale Dimere

Um die Ergebnisse der ssAuNP idealen Dimeren mit den üblicherweise verwendeten nicht-ideal sphärischen Dimeren zu vergleichen, wurden 50 nm Citrat-stabilisierte AuNP hergestellt. ^[52] Diese weisen eine Größe von 50.9 ± 6.1 nm und eine deutlich breitere Größenverteilung als die ssAuNP auf. Darüber hinaus sind bei den hergestellten AuNP deutlich mehr Kristallfacetten, sowie Kanten und Ecken zu erkennen (Abb. 63). Ebenso kommt es durch die große Variation der NP-Größen sowie der inhomogenen Kristallinität der NP zu einer Verbreiterung der Halbwertsbreite der Plasmonenbande im Extinktionsspektrum. Die AuNP weisen eine Rundheit von 0.898 ± 0.058 auf (Abb. 63, unten rechts) und im Vergleich zu den ssAuNP (0.976 ± 0.015) ist eine breitere Streuung der Werte zu erkennen.

Die Assemblierung der AuNP zu Dimeren erfolgte nach einer modifizierten Methode von Yoon *et al.* ^[19] Analog zum originalen Protokoll wurde die Glasoberfläche mit

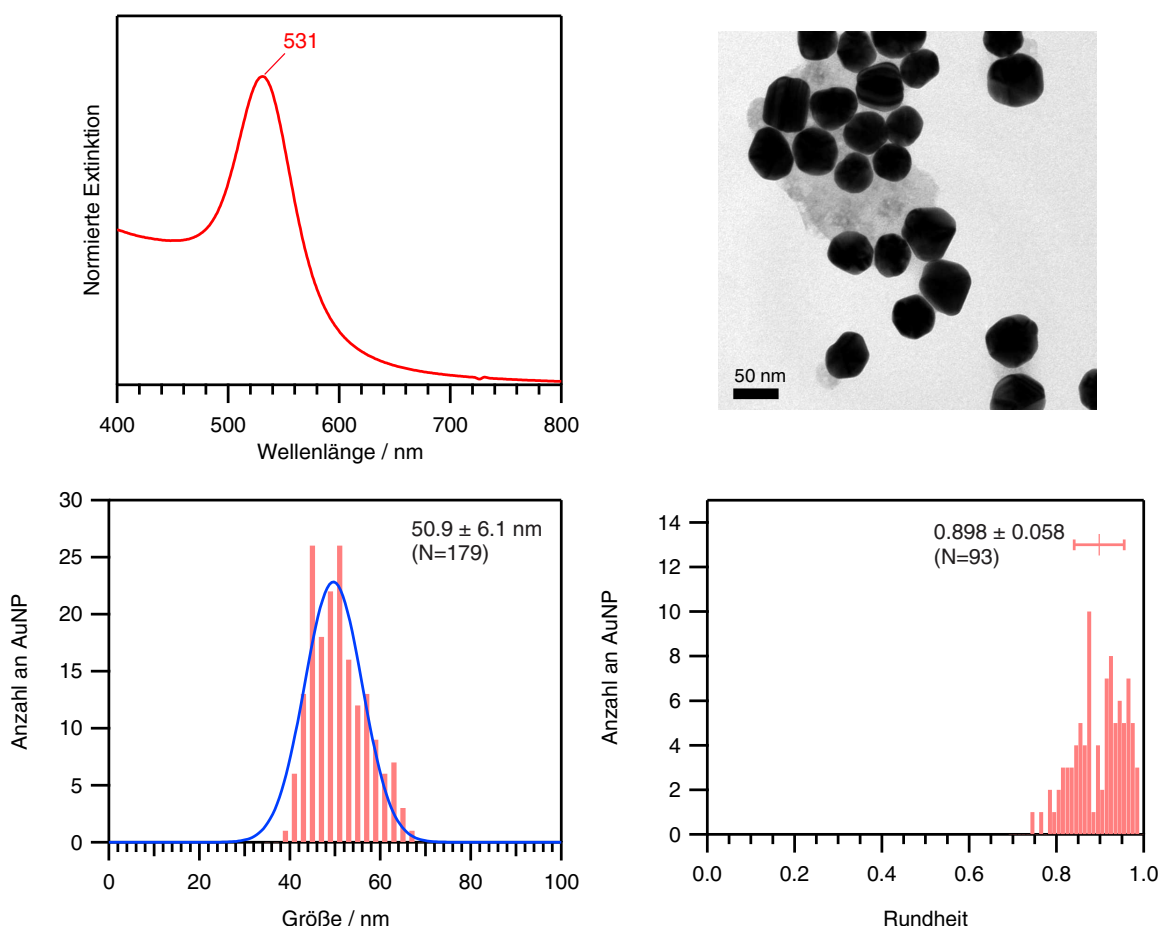


Abb. 63: Normiertes Extinktionsspektrum der nicht-idealen AuNP Monomere mit dem Maximum der Plasmonenbande bei 531 nm. TEM-Aufnahme (oben rechts) sowie die daraus erstellte Größenverteilung der NP mit einer ermittelten Größe von 50.9 ± 6.1 nm (Anzahl der NP: 179) und Rundheit von 0.898 ± 0.058 (Anzahl der NP: 93).

(3-Aminopropyl)trimethoxysilan (APTMS) funktionalisiert und auf dieser Citrat-stabilisierte nicht-ideale AuNP immobilisiert, wie in Abb.64 gezeigt. Die NP binden aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung der negativ geladenen Citrat-Moleküle, welche die NP stabilisieren, auf die durch die Aminogruppen positiv geladene Glasoberfläche durch elektrostatische Wechselwirkungen. Anschließend werden die AuNP mit 1,8-Octandithiol (C8) funktionalisiert. Abweichend zur Literatur wird kein Desilanisierungsschritt durchgeführt, in dem die Amino-funktionalisierte Glasoberfläche, auf die der erste AuNP adsorbiert ist, mit NaOH behandelt wird. Alle freistehenden Aminosilane, d.h. die nicht an die NP binden, werden durch die Behandlung mit Base hydrolysiert und eine unfunktionalisierte Glasoberfläche nur mit den zuvor adsorbierten AuNP bleibt zurück.

Da der letzte Schritt je nach Laborbedingungen und eingesetzten Chemikalien nicht vollständig erfolgt und es damit bei der Inkubation mit dem zweiten AuNP doch zu einer weiteren Adsorption von NP auf die Glasoberfläche gekommen ist, wurde für den letzten Schritt die AuNP in einem organischen Lösemittel dispergiert. Dieses verändert die Oberflächenladung der AuNP, so dass es nicht mehr auf die Aminogruppen der Glasoberfläche binden, sondern ausschließlich auf diesen Thiol-funktionalisierten ersten AuNP. Um die Dimere für die Einzelpartikel-Messungen vom Substrat zu desorbieren, werden die freien nicht mit Thiol besetzten Stellen der Oberfläche mit 11-Mercaptoundecansäure (MUA) funktionalisiert und anschließend die Assemblate durch

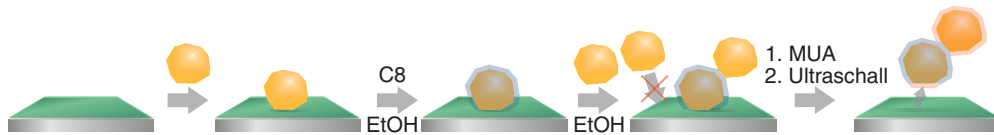


Abb. 64: Assemblierung von nicht-idealen AuNP zu Dimeren mit einer modifizierten Methode von Yoon *et al.* ^[19] Im ersten Schritt erfolgt die Adsorption von Citrat-stabilisierten AuNP auf eine mit Aminogruppen (grün) funktionalisierte Glasoberfläche. Die NP werden mit 1,8-Octandithiol (C8) (blau) funktionalisiert, an dem anschließend ein zweiter Citrat-stabiler AuNP binden kann. Durch die Verwendung von EtOH bei der Assemblierung kommt es nicht zur weiteren Adsorption der zweiten NP auf die Glasoberfläche. Um die Dimere zu dispergieren, werden die freie NP-Oberfläche mit MUA (rot) geschützt und durch anschließende Ultraschallbehandlung erfolgt die Desorption.

Ultraschallbehandlung dispergiert.

Über diese Methode lassen sich nicht-ideale Dimere wie in Abb. 65 herstellen. Das Extinktionsspektrum weist ein Maximum der longitudinalen Plasmonenkopplungsbande bei 696 nm bei den auf der Glasoberfläche adsorbierten Dimere unmittelbar nach der Präparation auf. Ebenso ist das Verhältnis von longitudinaler zu transversalen Plasmonenbande deutlich geringer als bei den idealen Dimeren (vergleiche Abb. 60). Nach der Desorption der Assemblate vom Glassubstrat kommt es zur leichten Aggregation, welches durch eine Rotverschiebung und Verbreiterung der Kopplungsbande nach 714 nm zu erkennen ist. In der TEM-Aufnahme ist zu beobachten, dass

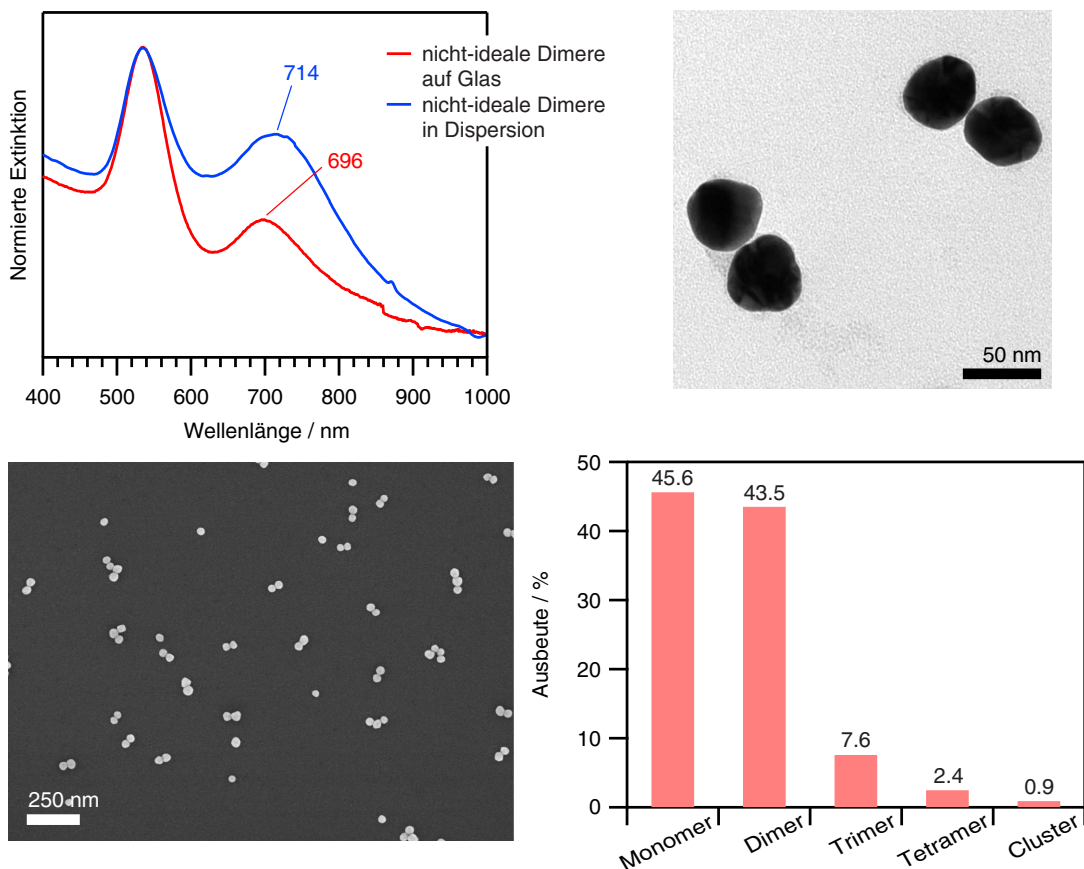


Abb. 65: Normiertes Extinktionsspektrum der C8-verbrückten nicht-idealen Dimere auf Glas (rot) und in Dispersion (blau) (oben links). TEM-Aufnahme (oben rechts) und REM-Aufnahme (unten links) der Dimere. Histogramm der Ausbeute an Dimeren, die durch fünf REM-Aufnahmen mit insgesamt 568 unterschiedlichen NP bestimmt wurde (unten rechts).

die Dimere im Vergleich zu den idealen Assemblaten eine deutlich inhomogene Form aufweisen. Anhand von REM-Aufnahmen wurde die Ausbeute an Dimeren ermittelt. Diese liegt bei 43.5 %, somit haben sich nur etwas weniger als die Hälfte der NP zu Dimeren assembliert. Dies wäre für eine weitere Anwendung dieser Strukturen als beispielsweise SERS-Marker eine zu geringe Ausbeute, jedoch reicht diese für die optische Einzelpartikel-Charakterisierung aus.

Die nicht-idealen Monomere und Dimere wurden jeweils auf einem Glasobjekträger aufgebracht und getrocknet. Von den Proben wurden analog zu den idealen Strukturen über den Dunkelfeld-Aufbau die jeweiligen Streuspektren gemessen. In Abb. 66 sind je sieben repräsentative Spektren gezeigt. Die nicht-idealen Monomere weisen eine breite Variation im spektralen Verlauf auf. Dieses ist auf die Ungleichmäßigkeit in Form und Größe der NP zurückzuführen und entspricht dem in der Literatur bekannten Beobachtungen.^[57] Ferner zeigen die Dimere ein ähnliches Verhalten. Es ist eine große Schwankung in der TDP- sowie in der LDP-Bande zu erkennen. Der Mittelwert der LDP-Kopplungsbande liegt bei 682.6 nm sowie die Standardabweichung bei 13.6 nm, welche somit deutlich größer ist, als bei den idealen ssAuNP-Dimeren. Aus der ungleichmäßigen Morphologie der Monomere resultiert eine noch größere Vielzahl an unterschiedlichen Formen bei der Dimer-Bildung, welche in der hohen Varianz der spektralen Verläufe sichtbar werden. So zeigte auch Höppener *et al.*^[21], dass die unterschiedliche Orientierung der einzelnen NP zueinander in nicht-idealen Hybrid-Dimeren, aus einem großen und kleinen NP, einen großen Einfluss auf das Streuverhalten der Nanostruktur hat.

4.3.11 Polarisationsaufgelöste Streuspektren

Um den Polarisationszustand der emittierten Streuung der Dimere zu messen, wird ein Polarisator zwischen Objektiv und Spektrometer im DF-Aufbau platziert. Abb. 67 und 68 (links) zeigen die gemessenen polarisationsabhängigen Streuspektren eines idealen bzw. nicht-idealen Dimers, die zwischen 0° und 330° in 30°-Schritten aufgenommen wurden. Die dargestellten Spektren sind zur besseren Auswertbarkeit mit Savitzky-Golay geglättet.

In den polarisationsaufgelösten Streuspektren der idealen Dimere lässt sich deutlich zwischen der TDP-, LQD- und LDP-Bande unterscheiden (Abb. 67, links). Bei einem Polarisationswinkel von

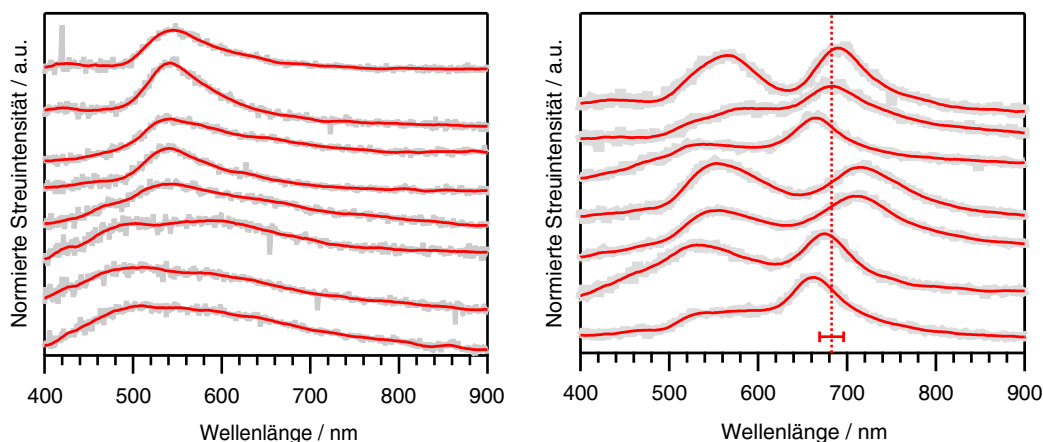


Abb. 66: Normierte Streuspektren der AuNP Monomere (links) und C8-verknüpften nicht-idealen Dimere (rechts). Die graue Linie repräsentiert das gemessene Hintergrund korrigierte Streuspektrum der Nanostruktur. In rot sind die mit Savitzky-Golay geglätteten Spektren gezeigt. Die gestrichelte, vertikale Linie entspricht dem Mittelwert aus je 20 gemessenen Streuspektren, sowie horizontal dargestellt die entsprechende Standardabweichung

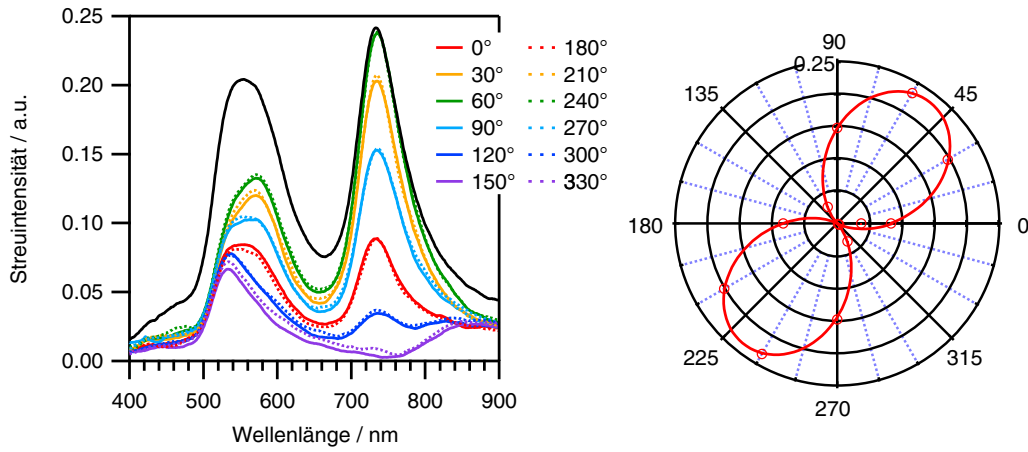


Abb. 67: Polarisationsabhängige Streuspektren eines idealen Dimers. Die Polarisation des detektierten Lichts wurde in 30° Abständen zwischen 0° bis 330° geändert und ein Streuspektrum aufgenommen. Die Streuspektren zeigen zur besseren Auswertbarkeit die nach Savitzky-Golay geglätteten Spektren (links). Die Intensität, welche beim Maximum der longitudinalen Plasmonenkopplungsbande bei 735 nm , wird entsprechend dem Polarisationswinkel in einem Polarkoordinatensystem aufgetragen (rechts).

150° bzw. 330° ist die TDP-Bande bei 533 nm zu erkennen. Die LQD- bzw. LDP-Kopplungsbande sind jeweils bei einem Winkel von 60° bzw. 240° bei 574 nm und 735 nm am deutlichsten. Somit stimmen die in Abb. 62 gezeigten berechneten, sowie die für die idealen Dimere gemessenen, Streuspektren überein. Es ist zu erkennen, dass die Spektren für die beiden Polarisationswinkel, welche dieselbe Orientierung der emittierten Streuung zur Dimerachse besitzen, nahezu identisch sind. Somit wird die homogene Form und Größe der ssAuNP-Assemblate in den Streuspektren wiedergegeben.

Weitergehend kann die Intensität der LDP-Kopplungsbande in Abhängigkeit vom Polarisationswinkel in einem Polarkoordinatensystem dargestellt werden, wie in Abb. 67 (rechts) gezeigt. Das Maximum liegt hierbei bei einem Winkel von 60° bzw. 300° und entspricht der Polarisierung parallel zur Dimerachse. Dreht man den Winkel um 90° , kommt es zur

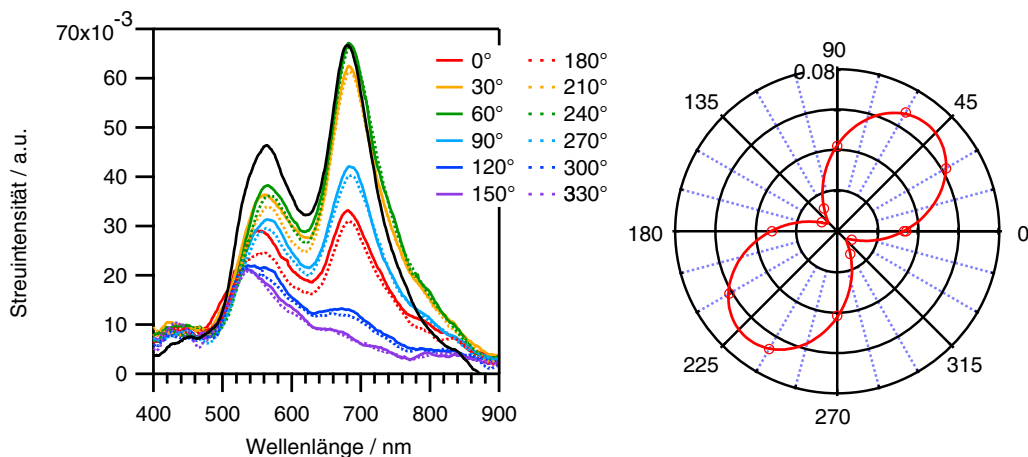


Abb. 68: Polarisationsabhängige Streuspektren eines nicht-idealen Dimers. Die Polarisation des detektierten Lichts wurde in 30° Abständen zwischen 0° bis 330° geändert und ein Streuspektrum detektiert. Die Streuspektren zeigen zur besseren Auswertbarkeit die nach Savitzky-Golay geglätteten Spektren (links). Die Intensität, welche am Maximum der longitudinalen Plasmonenkopplungsbande bei 686 nm , wird entsprechend dem Polarisationswinkel in einem Polarkoordinatensystem aufgetragen (rechts).

kompletten Auslöschung der LDP-Bande. Wird hingegen die Auftragung des nicht-idealen Dimers in Abb. 68 betrachtet, verschwindet die LDP-Bande nicht komplett. Dieses Verhalten wurde auch bei allen weiteren gemessenen polarisationsaufgelösten Streuspektren der nicht-idealen Dimere beobachtet, selbst wenn der Polarisationswinkel in kleinen Abständen um das Minimum herum variiert wurde.

Weitergehend wird das Depolarisierbarkeitsverhältnis ρ betrachtet, welches wie folgt definiert werden kann:

$$\rho = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}}. \quad (12)$$

I_{\max} und I_{\min} sind dabei durch die maximale, bzw. minimale Intensität der Streuspektren im Polarkoordinatensystem gegeben.^[56] Durch die polarisationsabhängige Veränderung der Intensität der LDP-Kopplungsbande lässt sich für die idealen und nicht-idealen Dimere ein $\rho_{LDP,ideal} = 0.89 \pm 0.08$ bzw. $\rho_{LDP,nicht-ideal} = 0.66 \pm 0.23$ berechnen (bestimmt aus je fünf Polarisationsexperimenten). Ein perfektes, ideal symmetrisches Dimer besitzt aufgrund seiner Uniformität ein Depolarisierbarkeitsverhältnis von 1. Die hier hergestellten idealen Dimere kommen diesem Verhältnis recht nahe. Auch die geringe Standardabweichung weist hier auf eine hohe Homogenität in der Form und Struktur der Dimere hin. Das Depolarisierbarkeitsverhältnis der nicht-idealen Dimere entspricht den, in der Literatur ermittelten, Werten für einen ähnlichen Abstand zwischen den beiden NP.^[56] Somit hat die Morphologie in dem geringsten Abstand der beiden NP einen erheblichen Einfluss auf das polarisationsaufgelöste Streuspektrum der Nanostruktur.

4.3.12 Verschiebung der LDP-Kopplungsbande

Beim Vergleich der Position der longitudinalen Plasmonenkopplungsbande (LDP) der idealen und nicht-idealen Dimere im Streu- (oben) und Extinktionsspektrum (unten), wie in Abb. 69, kann festgestellt werden, dass diese unterschiedliche Positionen aufweisen. Obwohl die idealen, als auch die nicht-idealen Monomere eine Größe von 50 nm besitzen und die transversale Plasmonenbande im Extinktionsspektrum bei 526 nm, bzw. 531 nm recht nah beieinander liegen, kommt es bei der LDP zu einer Verschiebung von 36 nm (die Verschiebung im Streuspektrum ist größer, da die Streuspektren der nicht-idealen Dimere eine größere Variation im Spektrenverlauf aufweisen als die der idealen Dimere).

Mehrere Faktoren können die Verschiebung hervorrufen. Um die Dimere vom Glassubstrat zu desorbieren und in eine stabile Dispersion zu überführen, werden die jeweiligen Dimere durch unterschiedliche Thiole stabilisiert. So wird für die idealen Dimere MUTMAB verwendet, das aufgrund seiner Ammoniumgruppen eine positive Ladung aufweist, wie die CTAB-Moleküle, die die Nanostruktur stabilisieren. Bei den nicht-idealen Dimeren wird Citrat durch MUA ersetzt, das eine negative Ladung besitzt. Somit führen die unterschiedlichen Moleküle zu einer anderen dielektrischen Umgebung um die Assemblate durch verschiedene Brechungsindizes der Moleküle kommen. Weitergehend beeinflusst die Struktur des ersten NP die unterschiedliche Ausbildung der Alkyldithiol SAM, das sich durch einen veränderten Abstand ausdrückt und ebenfalls eine Verschiebung der Plasmonenbande zur Folge haben kann (vergleiche Abb. 58). Ferner hängen die Streueigenschaften von nicht-isotropen NP von der Polarisation und der Wellenlänge des Lichts ab.

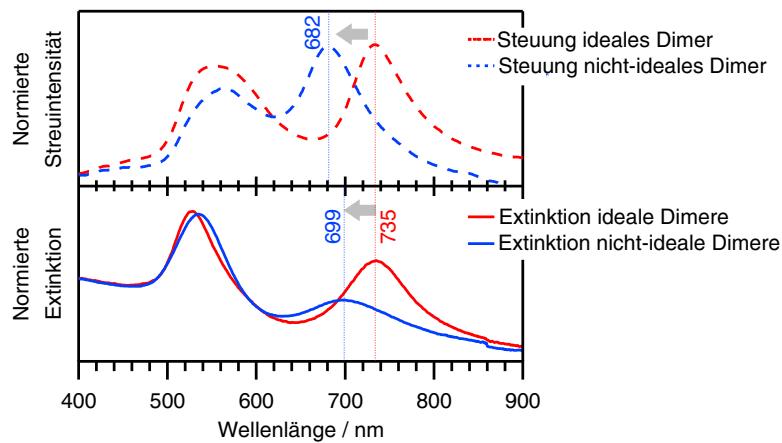


Abb. 69: Normierte Streuspektren eines idealen und nicht-idealen Dimers (oben), sowie normierte Extinktionsspektren der jeweiligen Dimere (unten). Markiert sind jeweils die Maxima der longitudinalen Plasmonkopplungsbanden (LDP).

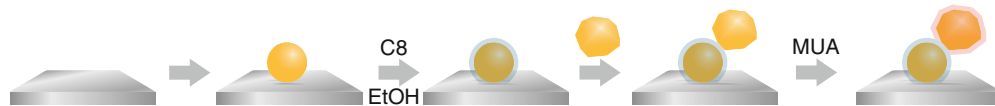


Abb. 70: Assemblierung eines idealen und nicht-idealen AuNP zu Hybrid-Dimeren. Im ersten Schritt erfolgt die Adsorption eines idealen AuNP (ssAuNP) auf einer Glasoberfläche. Die NP werden mit 1,8-Octandithiol (C8) funktionalisiert, an dem anschließend ein zweiter Citrat-stabilisierter AuNP binden kann. Um die Dimere zu dispergieren, wird die freie NP-Oberfläche mit MUA geschützt und durch anschließende Ultraschallbehandlung kann die Desorption erfolgen (letzteres ist nicht gezeigt).

Um die beiden letzten Aspekte zu überprüfen, wurden Hybrid-Dimere hergestellt. Diese bestehen aus einem ersten idealen AuNP, welche mit einem SAM aus 1,8-Octandithiol (C8) funktionalisiert wurde, an dem ein zweiter nicht-idealer AuNP binden kann (Abb. 70). Aus REM- und TEM-Aufnahmen (Abb. 71) ist zu erkennen, dass die Hybrid-Dimere aus einem nicht-idealen und einem idealen super sphärischen AuNP aufgebaut sind.

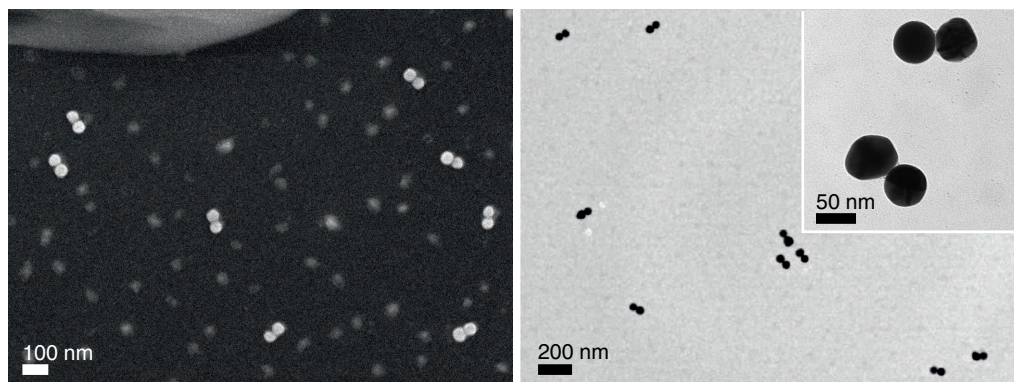


Abb. 71: REM- (links) und TEM-Aufnahmen (rechts) der hergestellten Hybrid-Dimere.

Für einen Vergleich wurden Extinktionsspektren der unterschiedlichen Dimere aufgenommen, wie in Abb. 72 dargestellt. Zuerst soll der Effekt der dielektrischen Umgebung betrachtet werden. Hierzu wurden ideale Dimere mit dem üblicherweise verwendeten MUTMAB (A) und dem für

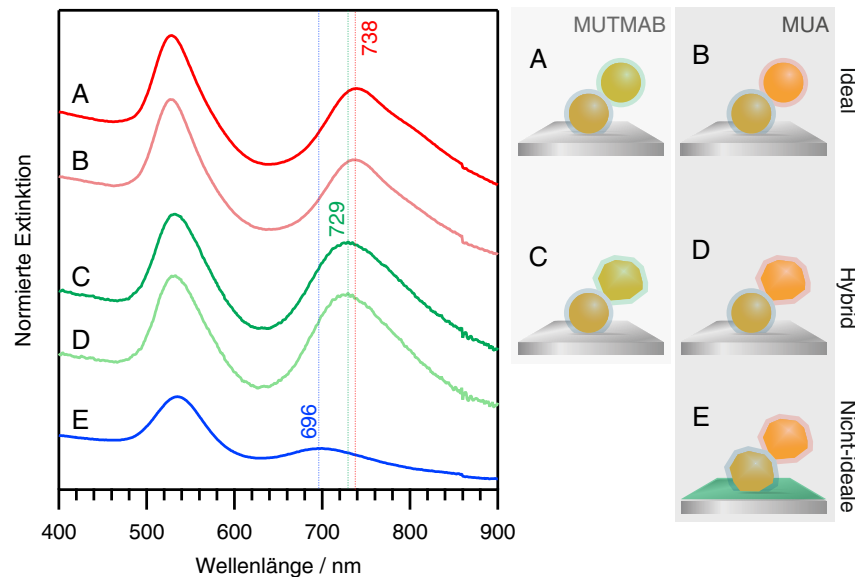


Abb. 72: Normierte Extinktionsspektren von idealen (A - MUTMAB, B - MUA), Hybrid (C - MUTMAB, D - MUA) und nicht-idealen Dimeren (E - MUA) mit unterschiedlichen Stabilisatormolekülen auf dem zweiten NP, gemessen auf Ensemblesniveau auf dem Glassubstrat.

die nicht-idealen Dimere verwendeten MUA (B) hergestellt. Es ist hierbei keine Verschiebung der Kopplungsbande bei 738 nm zu beobachten. Ebenso ist bei den hergestellten Hybrid-Dimeren keine Verschiebung bei der Änderung von MUTMAB (C) zu MUA (D) zu erkennen. Somit ist der Einfluss der veränderten, dielektrischen Umgebung so gering, dass er im Rahmen der Messgenauigkeit nicht ermittelt werden kann und somit vernachlässigt werden kann.

Um den Einfluss der SAM zu überprüfen, wurde bei den Hybrid-Dimeren erst das, auf dem Glas, adsorbierte ssAuNP mit dem Brückenmolekül inkubiert. Aufgrund der homogenen Oberfläche des ersten ssAuNP müsste sich ein vollständiger und gleichmäßiger SAMs des Brückenmoleküls auf diesem ausbilden. Werden die Spektren A und C bzw. B und D (jeweils gleiches Stabilisatormolekül) verglichen, ist eine Verschiebung von 738 nm zu 729 nm durch die Veränderung des zweiten NP detektierbar. Da eine Verschiebung zu beobachten ist, der zweite NP jedoch immer in einem konstanten Abstand auf den ersten NP bindet, kann eine veränderte SAM-Ausbildung bei den nicht-idealen Dimeren ausgeschlossen werden. Somit ist die Blauverschiebung der Kopplungsbande von den idealen zu nicht-idealen Dimeren auf die Kristallstruktur und inhomogene Form der nicht-idealen AuNP zurückzuführen. Diese unterscheiden sich stark in ihrer Größe und Kristallstruktur, wodurch eine Vielzahl von unterschiedlich, assemblierten Dimeren entstehen. Höppener *et al.* [21] zeigten, dass es einen erheblichen Einfluss auf die Position des Streuspektrums hat, ob zwei NP über zwei Flächen oder eine Kante zu einer Fläche miteinander binden. Durch die unterschiedliche Konfiguration von zwei nicht-idealen NP zueinander kommt es zu einer veränderten Morphologie der Lücke zwischen den NP. Die Energieaufspaltung bei der Hybridisierung von sphärischen NP zu idealen Dimeren ist am niedrigsten, im Vergleich zu heterogenen Bindungspartnern. Aufgrund ihrer nahezu perfekten, isotropen sphärischen Form, dem konstanten Abstand durch die Verbrückung, sowie der kontrollierten Assemblierung auf einem Glassubstrat, stellen diese das ideale experimentelle System für einen Vergleich mit simulierten Daten dar.

4.3.13 SERS-aktive ideale Dimere

Um weitergehend die ssAuNP-Dimere für SERS-Anwendungen einzusetzen ist es notwendig, neben den bisher verwendeten Alkyldithiolen, SERS-aktive Moleküle wie Arylverbindungen im *hot spot* zu immobilisieren. Hierzu wurden statt des reinen Alkyldithiols eine Mischung aus gleichen Teilen C8 und Thiophenol (TP) zur Ausbildung der SAM auf dem ersten ssAuNP verwendet. Wie in Abb. 73 gezeigt, kommt es zur Bildung eines Dual-SAMs um den ersten ssAuNP herum. Anschließend erfolgte die Inkubation mit dem zweiten ssAuNP und die Stabilisierung mit MUTMAB. Die gebildeten Dimere wurden anschließend mittels Ultraschall dispergiert und auf ein Quarzsubstrat getropft.

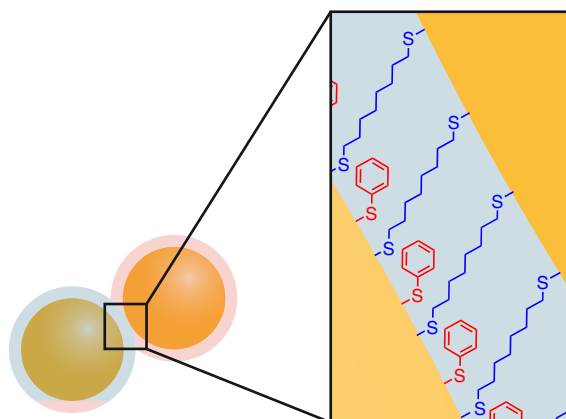


Abb. 73: Schematische Darstellung von Dimeren mit einem SAM aus TP und C8.

Analog, wie in Kapitel 4.3.8, wurden die Dimere mittels der DF-Spektroskopie untersucht. Durch die Verwendung des Dual-SAMs aus C8 und TP konnte keine Verschiebung der Plasmonenkopplungsbande (635 nm) im Extinktionsspektrum auf Ensemblesniveau und im Streuspektrum auf Einzelpartikellevel beobachtet werden (Abb. 74). Somit kann darauf geschlossen werden, dass es zu einer vollständigen Ausbildung einer geordneten SAM aus beiden Molekülen gekommen ist.

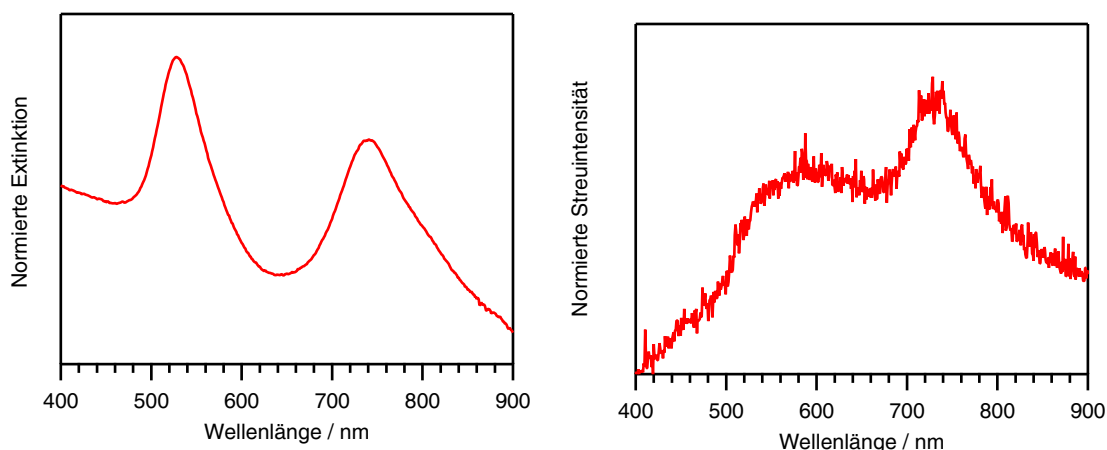


Abb. 74: Normiertes Extinktionsspektrum von Dimeren mit einem SAM aus C8 und TP und normiertes Streuspektrum eines einzelnen Dimers.

Anschließend wurde von dem selben Dimer das SERS-Spektrum gemessen, das normierte SERS-Spektrum des einzelnen Dimers, sowie das Ensemble an Dimeren ist in Abb. 75 gezeigt.

Des Weiteren sind die Raman-Spektren von TP und C8 dargestellt. In den beiden SERS-Spektren (Ensemble und Einzelpartikel) sind Beträge beider Moleküle (TP und C8) zu erkennen. Hierbei dominieren die stark verstärkten Streckschwingungen des Phenylrings bei 1000 cm^{-1} , sowie 1575 cm^{-1} und die C-H-Valenzschwingungen bei 1020 cm^{-1} und 1060 cm^{-1} des TP das Spektrum.^[111] Weitergehend sind die Deformationsschwingungen der Methylengruppen des C8 bei 1300 cm^{-1} und 1440 cm^{-1} deutlich zu erkennen.^[112] Die markante Schwingung bei 1060 cm^{-1} kann dem TP zugeordnet werden, obwohl im Raman-Spektrum des C8 ebenfalls eine Schwingung zu erkennen ist, da diese auch in SERS-Messungen ohne C8 auf Aggregaten aus AuNP^[113] und Au-Elektroden^[111] zu detektieren ist.

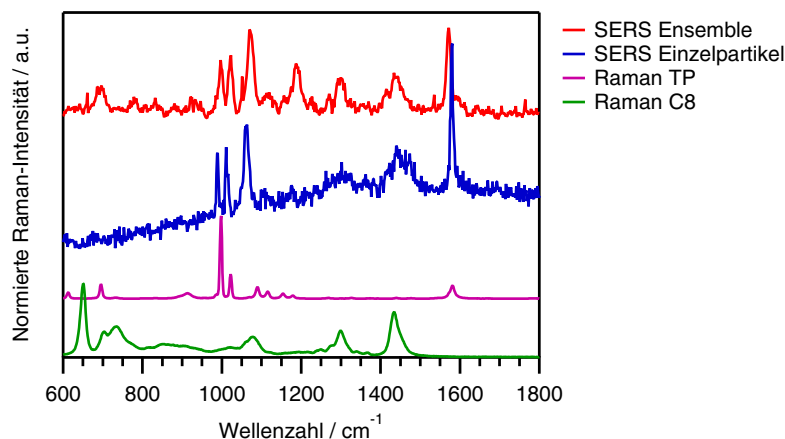


Abb. 75: Normiertes Ensemble- ($P=200\text{ }\mu\text{W}$, 10 s, 20x Objektiv) und Einzelpartikel-SERS-Spektrum ($P=30\text{ }\mu\text{W}$, 30 s, 100x Objektiv) und normierte Raman-Spektren von Thiophenol (TP) und 1,8-Octandithiol (C8) ($P=14\text{ mW}$, 5 s (TP) bzw. 10 s (C8), 20x Objektiv) gemessen bei $\lambda=632.8\text{ nm}$.

Die Verstärkung des SERS-Signals in einem Dimer ist von der Polarisationsrichtung des eingestrahlten monochromatischen Lichts abhängig, damit wird die maximale Verstärkung bei einer Polarisation erreicht, die longitudinal zur Dimerachse ist. Hierzu wurden die polarisationsaufgelösten SERS-Spektren eines einzelnen Dimers gemessen und der Polarisationswinkel dabei zwischen 0° und 300° jeweils um 60° verändert. Bei einem Winkel von 0° und 180° wurde die geringste SERS-Intensität gemessen, wie in Abb. 76 (links) zu sehen. Bei einer Drehung des Winkels von 0° auf 60° und dann auf 120° ist ein Anstieg des SERS-Signals zu beobachten. Für die Bande bei 1060 cm^{-1} wurde die Fläche durch Integration bestimmt und in Abhängigkeit vom Polarisationswinkel aufgetragen (Abb. 76, rechts). Analog zum polarisationsaufgelösten Streuspektrum folgt die Intensität der SERS-Bande (gegeben durch die Fläche) einem hantelförmigen Verlauf (Sinus-Funktion). Somit konnte gezeigt werden, dass die Dimere, verbrückt über C8, vorliegen und TP im *hot spot* zwischen den beiden ssAuNP lokalisiert ist.

Die vorliegenden Dimere können daher zum Beispiel als SERS-Marker in nanodiagnostischen Anwendungen genutzt werden. Aufgrund der idealen Form der ssAuNP sowie konstantem Abstand zwischen den NP und der daraus resultierenden homogenen Morphologie des *hot spots* wird erwartet, dass das SERS-Signal einzelner Dimere konstant ist und daher erstmals für quantitative SERS-Analysen genutzt werden kann. Dies ist bei den bisher verwendeten nicht-idealen NP nicht möglich, da die Ecken, Kanten und Spitzen der NP zu unterschiedlichen Verstärkungen des SERS-Signals im *hot spot* führen.

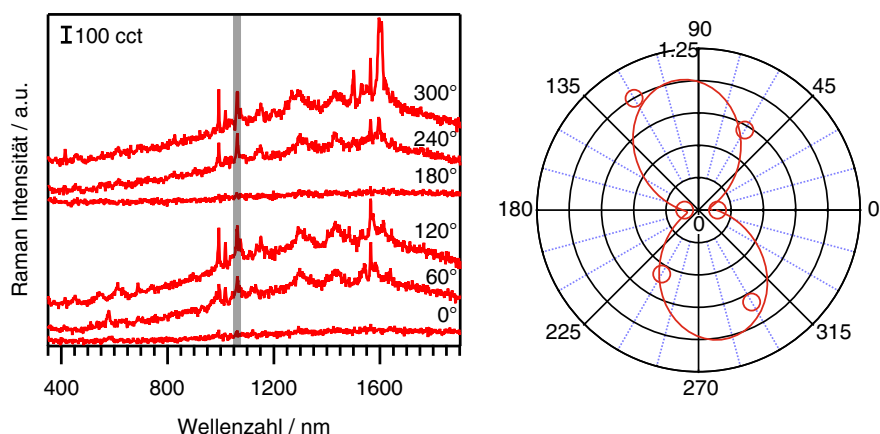


Abb. 76: Polarisationsaufgelöste Einzelpartikel-SERS-Spektren eines Dimers mit einem SAM aus C8 und TP ($P = 30 \mu\text{W}$, 10 s, 100x Objektiv) (links). Der Polarisationswinkel der detektierten Raman-Streuung wurde jeweils um 60° variiert. Die Fläche der Bande der C-H-Valenzschwingung bei 1060 cm^{-1} wurde durch Integration bestimmt und entsprechend dem Polarisationswinkel aufgetragen (rechts).

4.3.14 Zusammenfassung

Durch die Synthese und anschließende kontrollierte Assemblierung von CTAB-stabilisierten ssAuNP ist es möglich, Dimere herzustellen, die homogene, optische Eigenschaften aufweisen. Dazu wurden CTAB-stabilisierte ssAuNP durch die milde Oxidation von Nanopolyedern hergestellt. Die ssAuNP wurden durch elektrostatische Wechselwirkung der stabilisierenden CTAB-Doppelschicht auf einem Glassubstrat adsorbiert und schrittweise mit einem SAM aus Alkyldithiolen und zweiten ssAuNP funktionalisiert. Die Dimere konnten mit einer Ausbeute von 89 % hergestellt werden. Hierbei wurde eine neue Methode zur Destabilisierung der CTAB-Schicht auf den NP entwickelt. Mit einer Lösung aus EtOH und NaBr (1 mM) ist es möglich, an den ersten, auf dem Substrat immobilisierten, ssAuNP einen SAM aus Alkyldithiolen auszubilden. Die Anbindung des zweiten ssAuNP kann an den Thiol-funktionalisierten, ersten ssAuNP erfolgen, wenn die NP in einem Gemisch aus MeCN und NaBr ($200 \mu\text{M}$) dispergiert sind. Ohne die Verwendung der Kombination aus den organischen Lösemitteln (EtOH und MeCN) und Salz (NaBr oder NaCl) ist keine Funktionalisierung und kontrollierte Assemblierung zu Dimeren möglich.

Die Monomere und Dimere wurden mittels Elektronenmikroskopie, Extinktions- sowie Dunkelfeld-Streuspektroskopie auf Ensemble- und Einzelpartikelniveau charakterisiert und mit nicht-sphärischen AuNP-Monomeren und Dimeren verglichen. Bei den ssAuNP und Dimeren ist eine identische Morphologie und ein optisches Verhalten zu beobachten, das sich durch die homogene Form und eine geringe Variation in den Streuspektren zeigt. Weitergehend wurden polarisationsaufgelöste Streu- und SERS-Spektren (die SERS-Experimente wurden mit Dimeren mit einem SAM aus C8 und TP durchgeführt) gemessen, die ebenfalls die homogenen Eigenschaften widerspiegeln.

Des Weiteren konnte eine Blauverschiebung der Plasmonenkopplungsbande um etwa 35 nm der nicht-idealen Dimere im Vergleich zu den idealen Assemblaten beobachtet werden. Diese kann auf die inhomogene, nicht-ideale Form der AuNP zurückgeführt werden, was durch die Herstellung von Hybrid-Dimeren aus einem ssAuNP und AuNP gezeigt wurde.

Die hier hergestellten idealen ssAuNP Monomere und Dimere eignen sich aufgrund ihrer morphologischen und optischen Eigenschaften als optimales System, um präzise experimentelle

Ergebnisse mit theoretischen Simulationen zu vergleichen und neue Erkenntnisse im Bereich der Plasmonik und dabei vor allem in der oberflächenverstärkten Raman-Streuung zu erhalten.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten molekular verbrückte Edelmetall-Nanopartikel-Dimere (NP-Dimere) für die oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie gezielt hergestellt und charakterisiert werden. Aufgrund der starken Felderhöhung im *hot spot* dieser Dimere ist es möglich, an ihnen grundlegende Verstärkungsphänomene von einzelnen Molekülen zu studieren oder diese als lichtstarke Marker in der Nanodiagnostik einzusetzen.

Um zwei NP gezielt mit einem bifunktionalen Molekül zu verknüpfen, das die Möglichkeit besitzt, für die Einzelmolekül-Anwendung mit einem Raman-Farbstoff modifiziert zu werden, wurde im ersten Teil ein bisdendritisches Brückenmolekül synthetisiert. Als Grundbaustein diente Malonsäure, bei der das α -Kohlenstoffatom relativ einfach mit einem Raman-Farbstoff gekoppelt werden kann. Das Brückenmolekül **3** ließ sich durch Umsetzung mit Methylacrylat und Ethylendiamin aufbauen. Bei der Zugabe von Citrat-stabilisierten Silber-NP (AgNP) war eine Anbindung der terminalen Aminogruppen des bisdendritischen Moleküls an die Citrathülle der AgNP zu beobachten. Die Größe der entstehenden Cluster konnte dabei jedoch nicht kontrolliert werden. Daher war es nicht möglich, über diese Methode gezielt Dimere herzustellen. Um die Anbindung effektiver zu gestalten, wurden Syntheserouten erprobt, um die beiden Carbonsäuregruppen der Malonsäure mit Cysteamin zu funktionalisieren, so dass die Thiolgruppen des Cysteamins zur Bindung an die NP-Oberfläche genutzt werden konnte. Hierzu wurde das Cysteamin orthogonal durch Carbamatschutzgruppen blockiert, so dass nur die Aminogruppe zur Kopplung an die Carbonsäure der Malonsäure zur Verfügung stand. Jedoch konnte dabei das gewünschte Dithiolmalonat **12** nicht isoliert werden.

Parallel wurden Synthesen zur Herstellung von Rhodamin B Isothiocyanat und dessen Isotopologen durchgeführt, die für den sicheren Einzelmolekül-Nachweis mittels SERS nötig sind. Bisher wurden lediglich Rhodamin 6G Isotopologen verwendet, bei denen keine permanente Immobilisierung des Moleküls im *hot spot* möglich ist. Über die Isothiocyanatgruppe kann zum einen das Brückenmolekül funktionalisiert werden (zum Beispiel durch Reaktion mit einem Amin als Thioharnstoff) und zum anderen ist eine Anbindung des Schwefels direkt an die NP-Oberfläche realisierbar. Es war außerdem möglich, das Amino-Rhodamin B Derivat **25** zu isolieren und erste Ansätze zur Umsetzung zum Rhodamin B Isothiocyanat **27** durchzuführen. Zur Herstellung der Isotopologen wurden unterschiedliche Deuterierungs-Routen zum Wasserstoff-Deuterium-Austausch ausgearbeitet und drei Isotopologe des Amino-Rhodamin B erfolgreich synthetisiert. Diese wurden mittels der Raman-Spektroskopie charakterisiert und mit DFT Rechnungen verglichen, die eine bessere Bandenzuordnung ermöglichten. Somit konnten neue Wege aufgezeigt werden, um drei Isotopologen (statt der bisher in der Literatur ^[73] verwendeten zwei) für die Einzelmoleküldetektion mittels der SERS-Spektroskopie zu nutzen.

Weitergehend wurden 1,4-Benzyltrimethylthiol (BDMT) verbrückte SERS-aktive Gold-NP-Dimere (AuNP-Dimere, 25 nm) über eine Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode hergestellt, welche als SERS-Marker in Bildgebungsanwendungen eingesetzt werden können. Der Aufbau der Dimere erfolgt bei diesem Verfahren schrittweise auf einem modifizierten Glassubstrat. Auf dem Substrat wird der erste AuNP immobilisiert und mit einer Monolage aus Dithiolen funktionalisiert. Anschließend kann auf diese Weise der zweite AuNP an den modifizierten ersten AuNP binden. Neben BDMT wurden auch 1,4-Benzylthiol (BDT) und Biphenyl-4,4'-dithiol (BPDT) getestet.

Jedoch war es unter den hier verwendeten Bedingungen nicht möglich, eine Monolage auf den ersten AuNP auszubilden, die nötig ist, um den zweiten AuNP zu binden. Die BDMT verknüpften Dimere konnten nach Stabilisierung mit 11-Mercaptoundecansäure (MUA) vom Glassubstrat stabil dispergiert werden und zeigten auf Ensemblelevel und in Einzelpartikel-SERS-Experimenten eine hohe Raman-Aktivität. Somit konnten SERS-aktive Dimere in hohen Ausbeuten (87 %) hergestellt werden, die nach entsprechender Biofunktionalisierung als SERS-Marker genutzt werden können.

Im letzten Teil wurden super-sphärische AuNP (ssAuNP) durch die milde Oxidation von nicht-sphärischen Au-Nanopolyedern hergestellt und über dithiolische Brückenmoleküle über eine neue schrittweise Oberflächen-basierte Assemblierungsmethode zu Dimeren gekoppelt. Die ssAuNP zeigten auf Einzelpartikelniveau, im Vergleich zu den üblicherweise verwendeten nicht-ideal sphärischen AuNP, nahezu identische optische Eigenschaften. Der Nachteil der ssAuNP ist, dass diese aufgrund der Synthese mit einer robusten Doppelschicht aus CTAB-Molekülen stabilisiert sind, die sich ohne weiteres nicht entfernen lässt, um so gezielt Dimere auszubilden. Hierzu wurde eine neue Methode zur milden Entfernung der CTAB-Moleküle von der NP-Oberfläche entwickelt. Es hat sich gezeigt, dass es möglich ist, durch die Kombination von EtOH und NaBr (1 mM) einen ersten ssAuNP, welcher auf einem Glassubstrat bindet, mit Alkyldithiolen zu funktionalisieren und einen zweiten ssAuNP, dispergiert in einer Mischung aus MeCN und NaBr (200 μ M), an diesen anzubinden. Die Dimere wurden mittels Elektronenmikroskopie und Einzelpartikel-Streuspektroskopie charakterisiert und ebenfalls, wie die Monomere mit nicht-ideal sphärischen AuNP-Dimeren, verglichen. Durch die Ausbildung einer Monolage an Alkyldithiolen auf den ersten NP, an denen der zweite NP bindet, ist der Abstand der beiden NP in allen Dimeren nahezu identisch (sowohl bei den idealen ssAuNP, als auch bei den nicht-idealen AuNP Dimeren). Jedoch weisen die idealen Dimere, im Vergleich zu den nicht-idealen Strukturen, nur eine sehr geringe Variation im Verlauf der gemessenen Streuspektren auf. Dies lässt sich durch den Einfluss der nicht-idealen Form, wie z.B. Ecken, Spitzen und Kanten, auf die LSPR erklären. Weitergehend war eine Blauverschiebung der Plasmonenkopplungsbande der nicht-idealen Dimere zu beobachten, die durch Herstellung von Hybrid-Dimeren aus einem ssAuNP und einem nicht-idealen AuNP nachgewiesen werden konnte. Ebenfalls war es möglich, durch polarisationsaufgelöste Einzelpartikel-LSPR-Messungen zu zeigen, dass die Morphologie der *hot spots* einen entscheidenden Einfluss auf die Streuspektren besitzt. Die Spektren der idealen ssAuNP-Dimere weisen weitergehend, neben der aus dem Plasmonhybridisierungsmodell vorhergesagten transversalen antbindenden und longitudinalen bindenden Dipol-Dipol-, auch eine longitudinale bindende Oktupol-Oktupol-, sowie Quadrupol-Quadrupol-Plasmonkopplungsmodi auf, welche durch theoretische Berechnungen (FDTD) belegt wurden. Durch Variation der Länge der Alkylkette des verwendeten Alkyldithiol ((CH₂)₂ bis (CH₂)₁₆) konnte die Lage der Plasmonenkopplungsbande verändert werden. Diese Dimere können somit als Plasmonlineal^[29] genutzt werden.

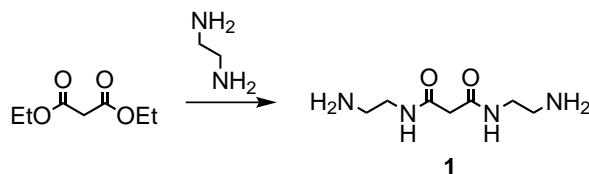
Des Weiteren wurden ssAuNP-Dimere mit einer Monolage aus 1,8-Octandithiol und Thiophenol hergestellt. Die SERS-Aktivität wurde auf Einzelpartikelniveau durch polarisationsabhängige SERS-Messungen nachgewiesen.

Aufgrund ihrer idealen Form und präzise im sub-Nanometerbereich kontrollierbarem Abstand bieten die hier hergestellten ssAuNP-Dimere eine optimale Plattform, um grundlegende

Fragestellungen der Plasmonik zu erforschen und diese mit theoretischen Berechnungen zu vergleichen. Diese Dimere bieten die Möglichkeit, die elektromagnetische Verstärkung in Abhängigkeit des Abstandes im *hot spot* durch Verwendung unterschiedlicher Alkyldithiole zu untersuchen. Diese müssen analog zu den C8 verbrückten Dimeren auf Einzelpartikelniveau analysiert werden. Außerdem kann auch die Größe der ssAuNP bei konstantem Abstand variiert werden, um den Einfluss der NP-Größe zu erforschen. Ferner können die Dimere, wie im letzten Abschnitt gezeigt, mit Raman-aktiven Molekülen funktionalisiert werden. Die so hergestellten Raman-Marker können erstmalig aufgrund der homogenen Struktur und der daraus gleichbleibenden SERS-Signalintensität als quantitative Marker in der Nanodiagnostik mittels der SERS-Spektroskopie eingesetzt werden. Die hier entwickelte Methode, um CTAB-stabilisierte ssAuNP zu funktionalisieren, bietet zudem neue Anwendungsmöglichkeiten der NP. Diese können somit über die milde Destabilisierung der CTAB-Doppelschicht durch die Kombination aus MeCN und NaBr mit thiolierten Molekülen funktionalisiert werden, wie z.B. mit Alkyl-, Arylthiole oder Biomoleküle, wie Proteine und DNA.

6 Synthesen

Synthese von *N,N'*-Bis(2-aminoethyl)malonamid

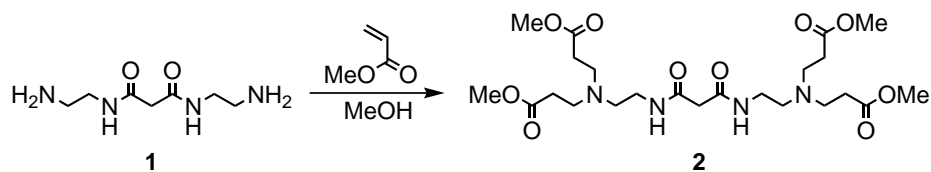


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Ethylmalonat	C ₇ H ₁₂ O ₄	160.17	1.0	7.9	1.12
Ethylendiamin	C ₂ H ₈ N ₂	60.10	-	-	90.0

Diethylmalonat (1.06 mL, 1.12 g, 7.9 mmol, 1.0 Äq.) wurde mit einem großen Überschuss an frisch destilliertem Ethylendiamin (100 mL, 90.0 g) unter Stickstoffatmosphäre versetzt. Das Gemisch wurde für eine Woche bei RT gerührt. Anschließend wurde das überschüssige Ethylendiamin unter reduziertem Druck (Sumpftemperatur: 65 °C, Kopftemperatur: 46 °C, Druck: 54 mbar) entfernt und im Ölvakuum (0.1 mbar, 60 °C) getrocknet. Als Produkt **1** wurden 1.49 g (7.9 mmol, 99 %) eines hellrosa Feststoffs erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>N,N'</i> -Bis(2-aminoethyl)-malonamid 1	C ₇ H ₁₆ N ₄ O ₂	188.23	99	7.9	1.49

¹H-NMR (DMSO-d₆): 7.99 (t, 2H, ³J=5.63 Hz, CONH), 3.04 (t, 4H, ³J=6.25 Hz, CONHCH₂), 3.01 (s, 2H, COCH₂CO) 2.55 (t, 4H, ³J=6.25 Hz, CH₂NH₂), 1.60 (bs, 4H, NH₂)



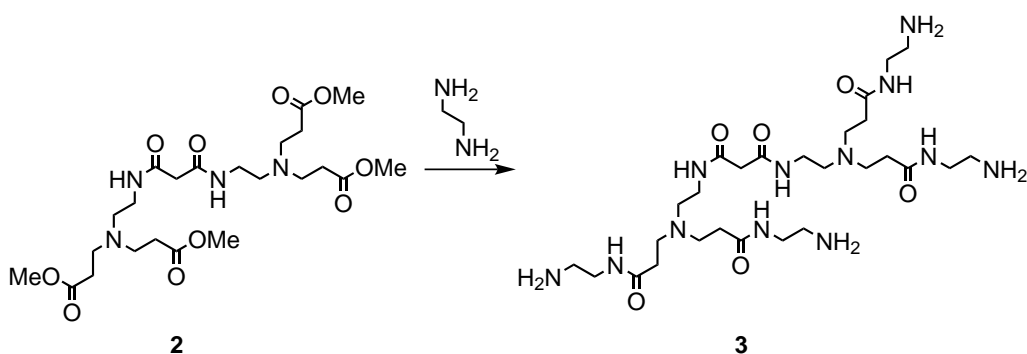
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>N,N'</i> -Bis(2-aminoethyl)malonamid 1	C ₇ H ₁₆ N ₄ O ₂	188.23	1.0	4.0	0.75
Methylacrylat	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	3.0	35.8	3.0

N,N'-Bis(2-aminoethyl)malonamid **A** (0.75 g, 3.98 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und mit einem Gemisch aus Methanol (5 mL) und Methylacrylat (3.20 mL, 3.0 g, 35.8 mmol, 9.0 Äq.) tropfenweise versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 3 Tage bei Dunkelheit und RT gerührt. Das Lösemittel und überschüssige Methylacrylat wurde unter reduziertem Druck entfernt. Als Produkt **2** wurden 2.11 g (3.96 mmol, 99 %) eines klaren, rosanen Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Bis-dendron G0.5 2	C ₂₃ H ₄₀ N ₄ O ₁₀	532.59	99	3.96	2.11

¹H-NMR (DMSO-d₆): 7.81 (t, 2H, ³J=5.52 Hz, CONH), 3.58 (s, 12H, CH₃) 3.08 (q, 4H, ³J=6.46 Hz, CONHCH₂), 2.99 (s, 2H, COCH₂CO), 2.68 (t, 8H, ³J=6.99 Hz, NR₂CH₂), 2.43 (t, 4H, ³J=6.46 Hz, CH₂NR₂), 2.40 (t, 8H, ³J=6.99 Hz, CH₂COOMe)

Synthese von Bis-dendron G1.0



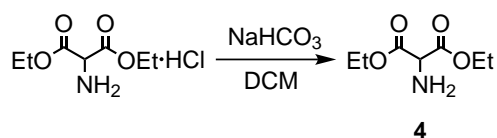
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Bis-dendron G0.5 2	C ₂₃ H ₄₀ N ₄ O ₁₀	532.59	1.0	1.88	1.0
Ethylendiamin	C ₂ H ₈ N ₂	60.10	-	-	90.0

Bis-dendron G0.5 **2** (1.00 g, 1.88 mmol, 1.0 eq.) wurde in Methanol (5 mL) gelöst und tropfenweise mit Ethylendiamin (16.5 mL, 14.8 g) versetzt. Das Gemisch wurde für drei Tage im Dunkeln bei RT gerührt, anschließend das überschüssige Ethylendiamin unter reduziertem Druck destilliert (Sumpftemperatur: 65 °C, Kopftemperatur: 46 °C, Druck: 54 mbar) und im Ölvakuum (0.1 mbar, 60 °C) getrocknet. Als Produkt **3** wurden 1.04 g (1.61 mmol, 86 %) eines hellgelblichen Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Bis-dendron G1.0 3	C ₂₇ H ₅₆ N ₁₂ O ₆	644.82	86	1.61	1.04

¹H-NMR (DMSO-d₆): 8.04 (t, 2H, ³J=5.32 Hz, CONH), 7.88 (t, 4H, ³J=5.32 Hz, CONH), 3.16 (s, 2H, COCH₂CO), 3.10 (q, 4H, ³J=6.25 Hz, CONHCH₂), 3.02 (q, 8H, ³J=6.25 Hz, CONHCH₂), 2.64 (t, 8H, ³J=6.88 Hz, NR₂CH₂), 2.54 (t, 8H, ³J=6.25 Hz, CH₂CONR), 2.43 (t, 4H, ³J=6.25 Hz, CH₂NR₂), 2.18 (t, 8H, ³J=6.88 Hz, CH₂CONH₂), 1.76 (bs, 8H, NH₂)

Synthese von Diethylaminomalonat



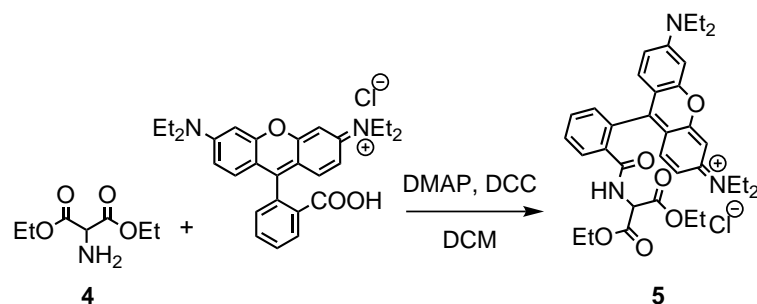
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Diethylaminomalonat hydrochlorid	C ₇ H ₁₄ ClNO ₄	211.64	1.0	14.2	3.0

Diethylaminomalonat hydrochlorid (3.0 g, 14.2 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einer gesättigten, wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung (30 mL) gelöst und unter Rühren mit Dichlormethan (30 mL) versetzt. Wässrige und organische Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit DCM (4x 10 mL) und die organische Phase mit Brine (10 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter reduziertem Druck entfernt. Als Produkt **4** wurden 2.07 g (11.8 mmol, 83 %) eines leicht gelblichen Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Diethylaminomalonat 4	C ₇ H ₁₃ NO ₄	175.18	83	11.8	2.07

¹H-NMR (DMSO-d₆): 4.12 (q, 4H, ³J=7.09 Hz, COOCH₂), 4.10 (s, 1H, CHNH₂), 2.18 (bs, 2H, NH₂), 1.18 (t, 6H, ³J=7.09 Hz, CH₃)

Synthese von Rhodamin B Malonat (DCC/DMAP)

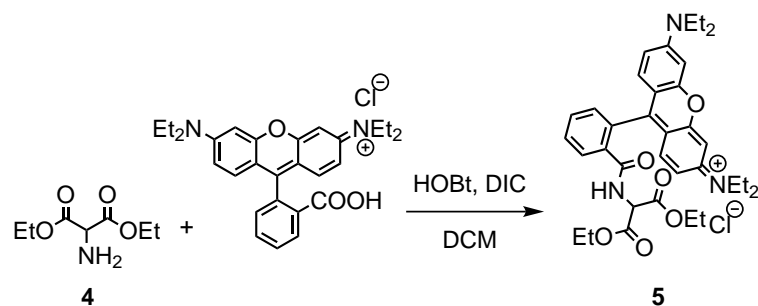


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Diethylaminomalonat 4	C ₇ H ₁₃ NO ₄	175.18	1.0	2.6	0.45
Rhodamin B	C ₂₈ H ₃₂ ClN ₂ O ₃	479.02	1.0	2.6	1.24
<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)	C ₁₁ H ₂₂ N ₂	206.33	1.0	2.7	0.55
4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP)	C ₇ H ₁₀ N ₂	122.17	-	-	0.02

Diethylaminomalonat **4** (0.45 g, 2.6 mmol, 1.0 Äq.), Rhodamin B (1.25 g, 2.6 mmol, 1.0 Äq.) und DMAP wurden in Dichlormethan (23 mL) gelöst und mit einem Gemisch aus Dichlormethan (2 mL) und DCC (0.55 g, 2.7 mmol, 1.0 Äq.) unter Eiskühlung und Rühren versetzt. Danach wurde das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Das entstandene Harnstoffderivat wurde anschließend abfiltriert und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt ist ein glänzender, lilafarbender Schaum und wurde mittels Säulenchromatographie getrennt.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Malonat 5	C ₃₅ H ₄₂ ClN ₃ O ₆	636.19	-	-	-

Synthese von Rhodamin B Malonat (DIC/HOBt)

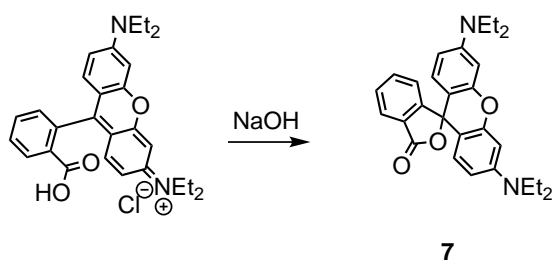


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Diethylaminomalonat 4	C ₇ H ₁₃ NO ₄	175.18	1.0	3.97	0.84
Rhodamin B	C ₂₈ H ₃₂ ClN ₂ O ₃	479.02	1.0	3.97	1.90
<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid (DIC)	C ₇ H ₁₄ N ₂	126.20	1.3	5.31	0.67
1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)	C ₆ H ₅ N ₃ O	135.12	1.0	3.97	0.54

Rhodamin B (1.90 g, 3.97 mmol, 1.0 Äq.), HOBt (0.54 g, 3.97 mmol, 1.0 Äq.) und DIC (0.67 g, 5.31 mmol, 1.3 Äq.) wurden in Dichlormethan (30 mL) gelöst und nach einer Aktivierungszeit von 20 Minuten Diethylaminomalonat **4** (0.84 g, 3.97 mmol, 1.0 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt ist ein glänzender lilafarbender Schaum und wurde mittels Säulenchromatographie getrennt.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Malonat 5	C ₃₅ H ₄₂ ClN ₃ O ₆	636.19	-	-	-

Synthese von Rhodamin B Base



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B	C ₂₈ H ₃₂ ClN ₂ O ₃	479.02	1.0	3.97	1.90

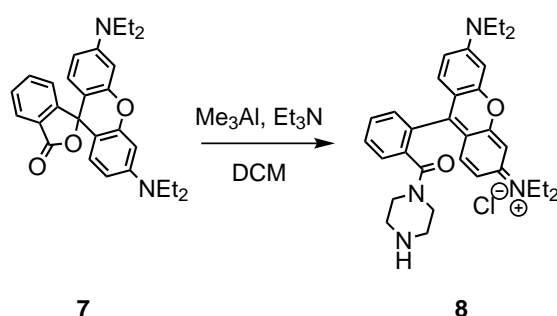
Rhodamin B (3.30 g, 6.89 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 1 M NaOH (40 mL) gelöst, mit Ethylacetat versetzt und für 48 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x 20 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 M NaOH (30 mL) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Als Produkt **7** wurde 1.85 g (4.18 mmol, 61 %) eines rosafarbenen Schaums erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Base 7	C ₂₈ H ₃₀ N ₂ O ₃	442.56	61	4.18	1.85

¹H-NMR (DMSO-d₆): 1.09 (t, 12H, ³J=7.03 Hz, CH₃), 3.35 (q, 8H, ³J=7.03 Hz, CH₂) + s(5H), 6.38-6.46 (m, 6H, CH-Ringsystem), 7.26 (dd, 1H ³J=7.51 Hz, CH), 7.66-7.79 (m, 2H, CH), 7.96 (dd, 1H ³J=7.35 Hz, CH)

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 443.23 – gemessen 443.23 für C₂₈H₃₀N₂O₃+H⁺

Synthese von Rhodamin B Piperazinamid



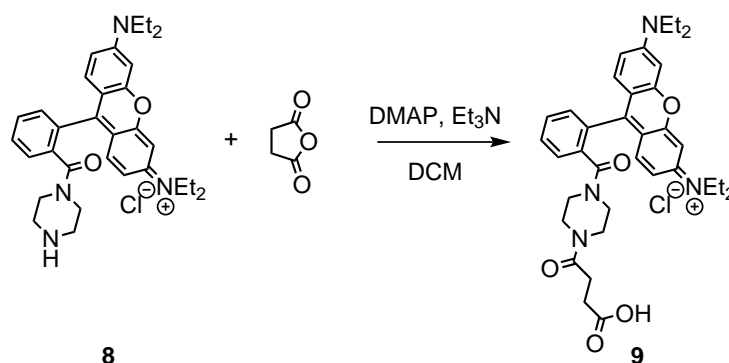
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Base 7	C ₂₈ H ₃₀ N ₂ O ₃	442.56	1.0	4.18	1.85
Piperazin	C ₄ H ₁₀ N ₂	86.14	4.0	16.8	1.45
Trimethylaluminium (2 M in Toluol)	C ₆ H ₁₈ Al ₂	144.18	2.0	8.38	-

Piperazin (1.45 g, 16.8 mmol, 4.0 Äq.) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in DCM (25 mL) gelöst und sehr langsam tropfenweise mit einer 2 M Lösung aus Trimethylaluminium in Toluol (4.2 mL, 8.38 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Das Gemisch wurde eine Stunde bei RT gerührt. Rhodamin B Base **7** (1.85 g, 4.18 mmol, 1.0 Äq.) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in DCM (5 mL) gelöst, zur Reaktionsmischung gegeben und über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Das Gemisch wurde anschließend tropfenweise mit 1 M Salzsäure versetzt bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mehrmals mit DCM (6x 5 mL) und DCM/MeOH (4:1; 4x 10 mL) gewaschen, bis die Waschlösung keine deutliche Färbung mehr zeigte. Das Lösemittel des Filtrats wurde unter reduziertem Druck abdestilliert bis ein lilafarbender öliger Rückstand zurück blieb. Dieser wurde in DCM (50 mL) gelöst und durch Filtration vom unlöslichen Feststoff getrennt und das Lösemittel unter reduziertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung (250 mL) und mit Ethylacetat (3x 100 mL) gewaschen. Die wässrige Lösung wurde mit Natriumchlorid gesättigt und mit 1 M Salzsäure angesäuert (pH 4). Die Lösung wurde anschließend mit Isopropanol/DCM (2:1; je 50 mL) extrahiert bis keine deutliche Verfärbung der organischen Phase mehr zu erkennen war. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter reduziertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in möglichst wenig DCM (1-1.5 mL) gelöst und langsam zu einer großen Menge an Diethylether getropft. Das Produkt fällt hierbei als lila/dunkelblauer Feststoff aus, welcher abfiltriert und getrocknet wurde. Als Produkt **8** wurden 0.94 g (1.84 mmol, 44 %) eines lila/dunkelblauen matten Feststoffs erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Piperazinamid 8	C ₃₂ H ₃₉ N ₄ O ₂	511.69	44	1.84	0.94

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 511.31 – gemessen 511.30 für C₃₂H₃₉N₄O₂+H⁺

Synthese von Bernsteinsäure Rhodamin B Piperazinamid



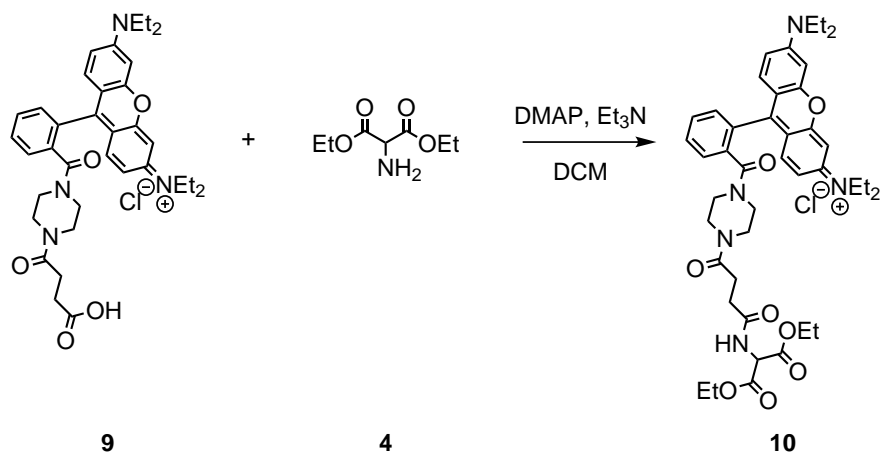
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Rhodamin B Piperazinamid 8	C ₃₂ H ₃₉ N ₄ O ₂	511.69	1.0	1.72	0.88
Bernsteinsäureanhydrid	C ₄ H ₄ O ₃	100.07	1.3	2.23	0.22
4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP)	C ₇ H ₁₀ N ₂	122.17	1.3	2.17	0.27

Rhodamin B Piperazinamid **8** (0.88 g, 1.72 mmol, 1.0 Äq.), Bernsteinsäureanhydrid (0.22 g, 2.23 mmol, 1.3 Äq.), DMAP (0.27 g, 2.17 mmol, 1.3 Äq.) und Triethylamin (3.0 mL) wurden in DCM (10 mL) gelöst und für 24 Stunden bei RT gerührt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend mit einer 1 M Kaliumcarbonat-Lösung (100 mL) versetzt und mit Ethylacetat (4x 50 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Natriumchlorid gesättigt und mit Isopropanol:DCM (2:1) mehrmals (6x 30 mL) extrahiert, bis die wässrige Phase nur noch eine schwache rosane Färbung aufwies. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter reduziertem Druck entfernt. Der violette Rückstand wurde in Chloroform gelöst, unlöslicher Feststoff abfiltriert und das Lösemittel unter reduziertem Druck abdestilliert.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Bernsteinsäure Rhodamin B Piperazinamid 9	C ₃₆ H ₄₃ ClN ₄ O ₅	611.76	99	1.7	1.04

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 611.32 – gemessen 611.33 für C₃₂H₃₉N₄O₂⁺

Synthese von Bernsteinsäure-Malonat Rhodamin B Piperazinamid



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Bernsteinsäure Rhodamin B Piperazinamid 9	C ₃₆ H ₄₃ ClN ₄ O ₅	611.76	1.0	1.7	1.04
Diethylaminomalonat 4	C ₇ H ₁₃ NO ₄	175.18	1.0	1.7	0.36
<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)	C ₁₁ H ₂₂ N ₂	206.33	1.0	1.7	0,35
4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP)	C ₇ H ₁₀ N ₂	122.17	-	-	0.04

Bernsteinsäure Rhodamin B Piperazinamid **9** (1.02 g, 1.7 mmol, 1.0 Äq.), Diethylaminomalonat (0.36 g, 1.7 mmol, 1.0 Äq.) und DMAP (0.04 g) wurden in DCM (10 mL) gelöst und unter Eisbadkühlung mit in DCM (3 mL) gelöstem DCC (0.35 g, 1.7 mmol, 1.06 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT über Nacht gerührt, anschließend das entstandene Harnstoffderivat abfiltriert und das Lösemittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser (10 mL) gelöst, mit Natriumchlorid gesättigt und mit Isopropanol:DCM (2:1) (4x 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter reduziertem Druck entfernt. Es wurden 1.21 g des Rohproduktes **10** erhalten.

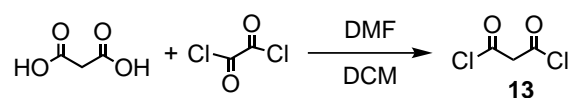
Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Bernsteinsäure-Malonat Rhodamin B Piperazinamid 10	C ₄₃ H ₅₄ ClN ₅ O ₈	804.38	88	1.5	1.21

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 768.40 – gemessen 768.40 für C₄₃H₅₄ClN₅O₈⁺

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 611.32 – gemessen 611.33 für C₃₂H₃₉N₄O₂⁺

Es zeigte sich, dass neben dem Produkt auch noch der M⁺-Peak des Eduktes im MS-Spektrum zu erkennen war. Das Reaktionsgemisch wurde erneut mit etwas DCC (0.1 g) und DMAP (0.02 g) umgesetzt und erneut aufgearbeitet. Anschließend waren beide Signale im MS-Spektrum wiederzufinden. Zur weiteren Aufarbeitung wurden Lösemitteltests und eine säulenchromatographische Trennung (Lösemittelgradient bis zu einer Zusammensetzung von Methanol/Acetonitril (6:4)) durchgeführt.

Synthese von Malonsäuredichlorid



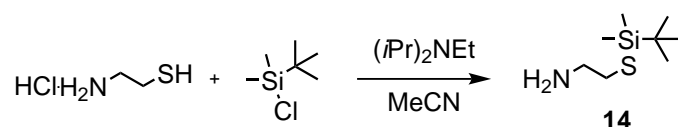
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Malonsäure	C ₃ H ₄ O ₄	104.06	1.0	4.8	0.50
Dimethylformamid	C ₃ H ₇ NO	73.09	0.13	0.62	0.05
Oxalylchlorid	C ₂ Cl ₂ O ₂	126.92	3.0	14.4	1.83

Malonsäure (0.50 g, 4.8 mmol, 1.0 Äq.) und Dimethylformamid (50 µL, 0.05 g, 0.62 mmol, 0.13 Äq.) wurden in DCM (7.0 mL) gelöst und über 60 Minuten bei 0 °C unter starkem Rühren tropfenweise mit Oxalylchlorid (1.22 mL, 1.83 g, 14.4 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Anschließend wurde die Temperatur für eine Stunde konstant gehalten und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und als Rohprodukt **13** ein braunes/dunkelorange Öl erhalten, das ohne weitere Reinigung für die weitere Synthese verwendet wurde.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Malonsäuredichlorid 13	C ₃ H ₂ Cl ₂ O ₂	140.95	100	4.8	0.68

Säurechloride besitzen eine hohe Reaktivität und sind somit nicht für längere Zeit stabil. Das Malonsäuredichlorid wurde daher direkt nach der Synthese weiter umgesetzt.

Synthese von [(2-Aminoethyl)sulfanyl](*tert*-butyl)dimethylsilan



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Cysteaminhydrochlorid	C ₂ H ₇ NS·HCl	113.61	1.0	10	1.14
Diisopropylethylamin	C ₈ H ₁₉ N	129.25	2.3	23.0	2.97
<i>tert</i> -Butyldimethyl-silylchlorid	C ₆ H ₁₅ SiCl	150.72	1.3	13.0	1.96

Cysteamin hydrochlorid (1.14 g, 10.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in trockenem MeCN (10 mL) und *tert*-Butyldimethyl-silylchlorid (1.96 g, 13.0 mmol, 1.3 Äq.) in Diisopropylethylamin (4.0 mL, 2.97 g, 23.0 mmol, 2.3 Äq.) bei 0 °C unter Argonatmosphäre gelöst. Beide Lösungen wurden zusammen gegeben und 10 Minuten bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde direkt ohne weitere Reinigung für die weitere Synthese eingesetzt.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
[(2-Aminoethyl)sulfanyl] (<i>tert</i> -butyl)dimethylsilan 14	C ₈ H ₂₁ NSSi	191.41	100	10.0	1.91

Synthese von Malonsäuredicysteaminthiol



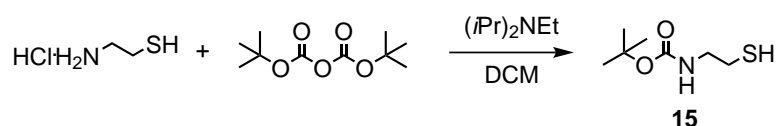
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Malonsäuredichlorid 13	C ₃ H ₂ Cl ₂ O ₂	140.95	1	4.8	0.68
[(2-Aminoethyl)sulfanyl] (<i>tert</i> -butyl)dimethylsilan 14	C ₈ H ₂₁ NSSi	191.41	2.1	10.0	1.91

Malonsäuredichlorid **13** (0.68 g, 4.8 mmol, 1.0 Äq.) wurde tropfenweise bei 0 °C mit einer frisch zubereiteten Lösung von [(2-Aminoethyl)sulfanyl](*tert*-butyl)dimethylsilan] **14** (1.91 g, 10.0 mmol, 2.1 Äq.) in MeCN (15 mL) versetzt, wobei eine Gasbildung zu beobachten war. Das Reaktionsgemisch wurde zwei Stunden unter Argonatmosphäre bei 0 °C gerührt. Die erhaltene Substanz unter reduziertem Druck eingengt und in Wasser aufgenommen. Die Mischung wurde mit Dichlormethan (3x 25 mL) extrahiert und die vereinten organischen Phasen bei reduziertem Druck konzentriert.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Malonsäuredicysteaminthiol 12	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S ₂	222.32	-	-	-

Das Produkt **12** konnte nicht isoliert werden. Im NMR-Spektrum der Substanz waren keine charakteristischen Signale zu erkennen.

Synthese von *tert*-Butyl-*N*-(2-sulfanylethyl)carbamat (*N*-Boc-Cysteamin)



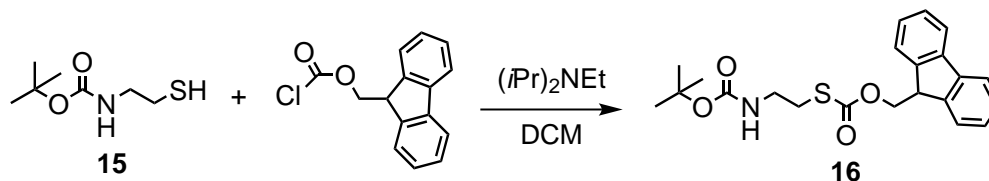
Substanz	Formel	M [g · mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Cysteaminhydrochlorid	C ₂ H ₇ NS·HCl	113.61	1.0	10.0	1.14
Diisopropylethylamin	C ₈ H ₁₉ N	129.25	1.0	10.0	1.29
Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat	C ₁₀ H ₁₈ O ₅	218.25	1.0	10.0	2.18

Cysteaminhydrochlorid (1.14 g, 10.0 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutiertem Dichlormethan (25 mL) und Diisopropylethylamin (1.74 mL, 1.29 g, 10.0 mmol, 1.0 Äq.) gelöst und unter Argonatmosphäre für 20 Minuten gerührt. Zum Reaktionsgemisch wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (2.14 mL, 2.18 g, 10.0 mmol, 1.0 Äq.) zugegeben und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionskontrolle wurde mittels DC mit Dichlormethan/Methanol (9:1) als Laufmittel durchgeführt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (4x 20 mL) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck konzentriert. Als Produkt **15** wurden 1.70 g (9.60 mmol, 96 %) eines Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>N</i> -Boc-Cysteamin 15	C ₇ H ₁₅ NO ₂ S	177.26	96	9.60	1.70

¹H-NMR (DMSO-d₆): 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.45 (t, 1H, SH), 2.46 (t, 2H, CH₂), 3.05 (q, 2H, CH₂), 6.96 (t, 1H, NH).

Synthese von [(2-[(*tert*-Butoxy)carbonyl]aminoethyl)sulfanyl](9*H*-fluoren-9-yl-methoxy)-methanon (*N*-Boc-*S*-Fmoc-Cysteamin)



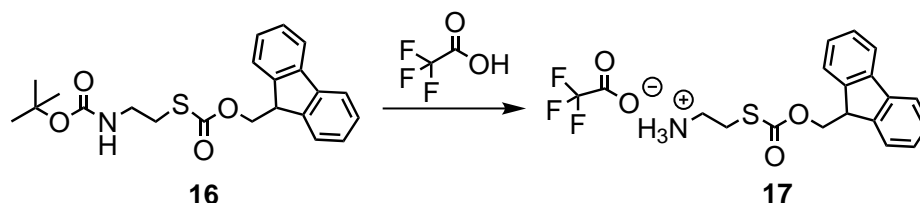
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>N</i> -Boc-Cysteamin 15	C ₇ H ₁₅ NO ₂ S	177.26	1.0	9.60	1.70
Diisopropylethylamin	C ₈ H ₁₉ N	129.25	1.0	9.6	1.24
FmocCl	C ₁₅ H ₁₁ ClO ₂	258.70	1.05	10.1	2.61

N-Boc-Cysteamin **15** (1.70 g, 9.60 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutiertem DCM (25 mL) und Diisopropylethylamin (1.67 mL, 1.24 g, 9.6 mmol, 1.0 Äq.) unter Argonatmosphäre gelöst und 20 Minuten gerührt. FmocCl (2.61 g, 10.1 mmol, 1.05 Äq.) wurde zur Reaktionsmischung gegeben und bei Raumtemperatur fünf Stunden gerührt. Die Reaktionskontrolle wurde mittels DC mit DCM/MeOH (9:1) als Laufmittel durchgeführt. Die Mischung wurde mit Wasser (4x 20 mL) und gesättigter Ammoniumchloridlösung (20 mL) gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde mittels MPLC mit Cyclohexan/Ethylacetat (Gradient 0-15 %) gereinigt, wodurch 3.07 g des Produktes **16** (7.68 mmol, 80 %) als gelbliches Öl erhalten wurde.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>N</i> -Boc- <i>S</i> -Fmoc-Cysteamin 16	C ₂₂ H ₂₅ NO ₄ S	399.15	80	7.68	3.07

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.91 (t, 2H, CH₂), 3.26 (t, 2H, CH₂), 4.19 (t, 1H, CH), 4.42 (d, 2H, CH₂), 4.75 (bs, 1H, NH), 7.26 (t, 2H, CH), 7.35 (t, 2H, CH), 7.53 (d, 2H, CH), 7.70 (d, 2H, CH).

Synthese von 2-((((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)thio)ethan-1-aminium-2,2,2-trifluoroacetat (*S*-Fmoc-Cysteamin Trifluoroacetatsalz)

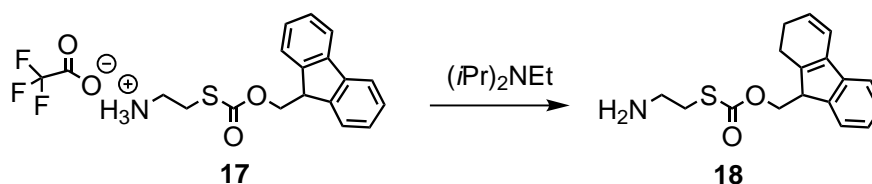


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>N</i> -Boc- <i>S</i> -Fmoc-Cysteamin 16	C ₂₂ H ₂₅ NO ₄ S	399.15	1.0	7.68	3.07
Trifluoressigsäure	C ₂ HF ₃ O ₂	114.02	13.5	103.8	11.84

N-Boc-*S*-Fmoc-Cysteamin **16** (3.07 g, 7.68 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Trifluoressigsäure (8.0 mL, 11.84 g, 103.8 mmol, 13.5 Äq.) gelöst und bei Raumtemperatur für 16 Stunden gerührt. Die Trifluoressigsäure wurde unter reduziertem Druck durch Destillation entfernt. Der erhaltene Feststoff wurde mit Ethanol (5x 20 mL) Co-destilliert und anschließend mit Diethylether versetzt, wobei ein weißer Feststoff kristallisiert. Durch Behandlung im Ultraschallbad wurde dieser dispergiert, abfiltriert und getrocknet. Das Filtrat wurde bei -24 °C gekühlt und nach Entwicklung eines Niederschlags erneut filtriert. Der Filtrationsvorgang wurde so lange wiederholt, bis kein weiterer Niederschlag entstand. Als Produkt wurden 1.08 g des *S*-Fmoc-Cysteamin Trifluoroacetatsalzes **17** (2.615 mmol, 39 %) als weißer Feststoff erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteamin Trifluoroacetatsalz 17	C ₁₉ H ₁₈ F ₃ NO ₄ S	413.41	39	2.62	1.08

**Synthese von *O*-((9*H*-fluoren-9-yl)methyl)*S*-(aminoethyl)carbonthioat
(*S*-Fmoc-Cysteamin)**

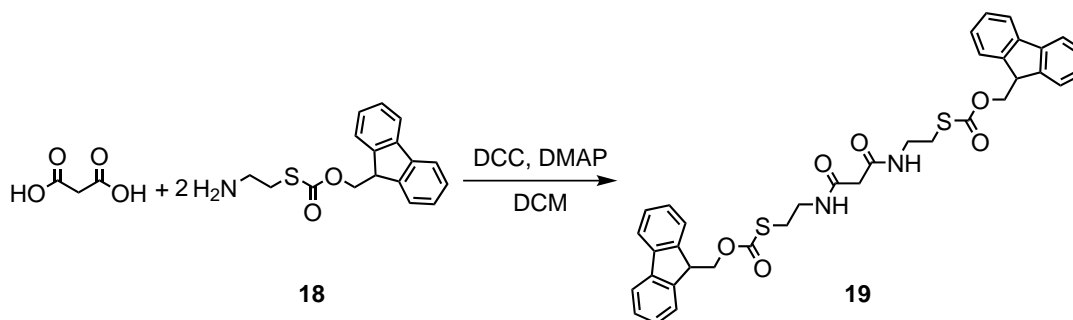


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteamin-Trifluoroacetatsalz 17	C ₁₉ H ₁₈ F ₃ NO ₄ S	413.41	1.0	2.62	1.08
Diisopropylethylamin	C ₈ H ₁₉ N	129.25	1.0	2.62	0.34

S-Fmoc-Cysteamin-Trifluoroacetatsalz **17** (1.08 g, 2.62 mmol, 1.0 Äq.) wurde in DCM (10 mL) und Diisopropylethylamin (0.46 mL, 0.34 g, 2.62 mmol, 1.0 Äq.) gelöst. Das Gemisch wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Wasser (4x 10 mL), sowie mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck abdestilliert und der erhaltene Feststoff mittels MPLC gereinigt (Cyclohexan/Ethylacetat; Gradient: 0-30 %). Als Produkt **18** wurden 0.56 g (1.86 mmol, 71 %) eines weißen feinkristallinen Feststoffes erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteamin 18	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ S	299.39	71	1.86	0.56

Synthese von *O,O'*-Bis((9*H*-fluoren-9-yl)methyl)*S,S'*((malonylbis(azandiyl))bis(ethan-2,1-diyl))bis(carbonthioat) (*S*-Fmoc-Cysteaminmalonat)

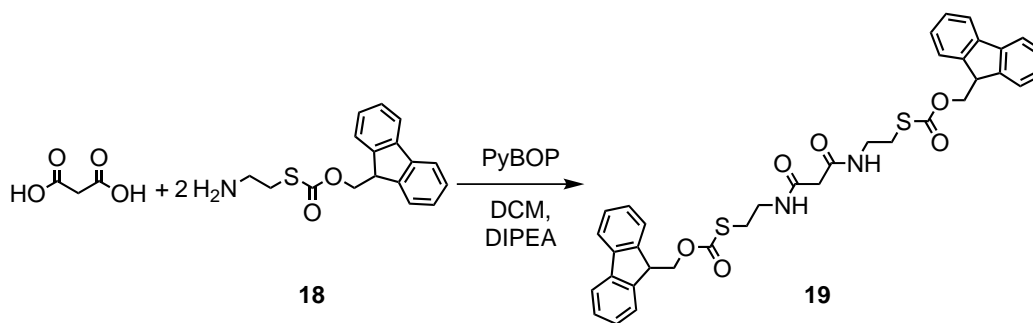


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteamin 18	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ S	299.39	2.0	1.87	0.56
<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide	C ₁₇ H ₁₇ N ₂	206.33	2.5	4.66	0.96
4-Dimethylaminopyridin	C ₇ H ₁₀ N ₂	122.17	2.0	3.73	0.46
Malonsäure	C ₃ H ₄ O ₄	104.06	1.0	3.73	0.39

Malonsäure (0.39 g, 3.73 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutiertem DMF (5 mL) und absolutiertem DCM (10 mL) gelöst. *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide (0.69 g, 4.66 mmol, 2.5 Äq.) sowie 4-Dimethylaminopyridin (0.46 g, 3.73 mmol, 2.0 Äq.) wurden bei 0 °C in absolutiertem DMF (5 mL) und absolutiertem DCM (10 mL) gelöst und 20 Minuten gerührt. Die Malonsäurelösung wurde zugegeben und weitere 20 Minuten gerührt. *S*-Fmoc-Cysteamin **18** (0.56 g, 1.87 mmol, 2.0 Äq.) wurde in absolutiertem DCM (5 mL) bei 0 °C gelöst und zum Reaktionsgemisch bei 0 °C zugegeben und 18 Stunden gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels MPLC (Cyclohexan/Ethylacetat; Gradient: 0-30 %) gereinigt. Als Produkt **19** wurden 0.37 g (0.56 mmol, 60 %) eines gelblichen Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteaminmalonat 19	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ O ₆ S ₂	666.81	60	0.56	0.37

Synthese von *O,O'*-Bis((9*H*-fluoren-9-yl)methyl)*S,S'*-((malonylbis(azandiyl))bis(ethan-2,1-diyl))bis(carbonthioat) (*S*-Fmoc-Cysteaminmalonat)

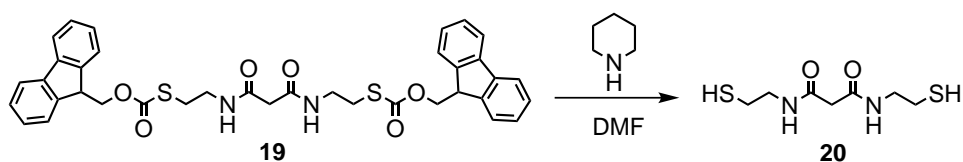


Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteamin 18	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ S	299.39	2.1	5.0	1.50
Benzotriazol-1-yl-oxytri- pyrrolidinophos- phoniumhexafluorophosphat (PyBOP)	C ₁₈ H ₂₈ F ₆ N ₆ OP ₂	520.39	6.0	14.0	7.45
Malonsäure	C ₃ H ₄ O ₄	104.06	1.0	2.39	0.25
Diisopropylethylamin	C ₈ H ₁₉ N	129.25	8.0	19.08	2.47

Malonsäure (0.25 g, 2.39 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutiertem DCM (50 mL) und Diisopropylethylamin (2.47 g, 3.4 mL, 19.08 mmol, 8.0 Äq.) bei 0 °C gelöst und 20 Minuten lang gerührt. PyBOP (7.45 g, 14.0 mmol, 6.0 Äq.) und *S*-Fmoc-Cysteamin **18** (1.50 g, 5.0 mmol, 2.1 Äq.) wurden hinzugegeben und 18 Stunden gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels MPLC (Cyclohexan/Ethylacetat; Gradient 0-30 %) gereinigt. Es konnte an dieser Stelle kein Produkt **19** isoliert werden.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
<i>S</i> -Fmoc-Cysteaminmalonat 19	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ O ₆ S ₂	666.81	-	-	-

Synthese von Malonsäuredicysteaminthiol



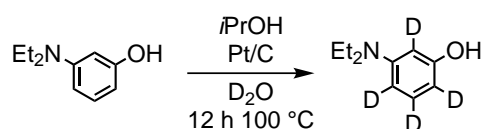
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
S-Fmoc-Cysteamine malonate 19	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ O ₆ S ₂	666.81	1.0	0.56	0.37
Piperidin	C ₅ H ₁₁ N	85.15	72.3	40.5	3.45

S-Fmoc-Cysteamine malonate **19** (0.37 g, 0.56 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Gemisch aus Dimethylformamid und Piperidin (10 mL, Verhältnis 3:2) gelöst und 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mittels Ölpumpenvakuum eingedunstet, wodurch ein Öl erhalten wurde. Dieses wurde mittels MPLC mit Dichlormethan/Methanol (Gradient 0-10 %) gereinigt. Es wurden 0.106 g (0.48 mmol, 85 %) eines bräunlichen Öls erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Malonsäure-bis(cysteine) dithiol 12	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S ₂	222.32	85	0.48	0.11

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 2.76 (t, 4H, CH₂), 3.17 (s, 2H, CH₂), 3.31 (q, 4H, CH₂), 8.07 (t, 2H, NH)

Das Ergebnis des ¹H-NMR-Spektrums passte nicht zu den erwarteten Werten.

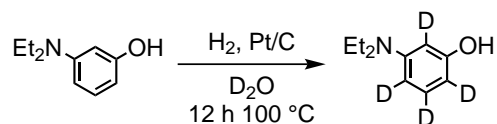
Deuterierung von 3-Diethylaminophenol ohne H₂

Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
3-Diethylaminophenol	C ₁₀ H ₁₅ NO	165.24	1.0	0.25	0.041

3-Diethylaminophenol (0.0431 g, 0.25 mmol) wurde mit Isopropanol (0.05 mL), 5 %-Pt/C (0.0305 g) und D₂O (1 mL) in einem Mikroreaktionsgefäß zusammengegeben. Die Reaktionsmischung 12 h bei 100 °C auf einem Schüttler mit Temperaturregelung gerüttelt. Zur Entfernung des Pt/C wurde die Reaktionssuspension durch einen 0.45 µm Spritzenfilter gegeben und mit Diethylether verdünnt. Die Mischung wurde anschließend mit Wasser (10 mL) gewaschen und der Diethylether unter vermindertem Druck entfernt. Es wurden 0.04 g (0.24 mmol, 95 %) an d₄-3-Diethylaminophenol als eine braune ölige Substanz erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
d ₄ -3-Diethylaminophenol	C ₁₀ H ₁₁ D ₄ NO	169.26	95	0.24	0.04

Die Effektivität der Deuterierung wurde mit Hilfe von ¹H-NMR unter Zusatz von Dioxan als Standard und ²H-NMR bestimmt.

Deuterierung von 3-Diethylaminophenol mit H₂

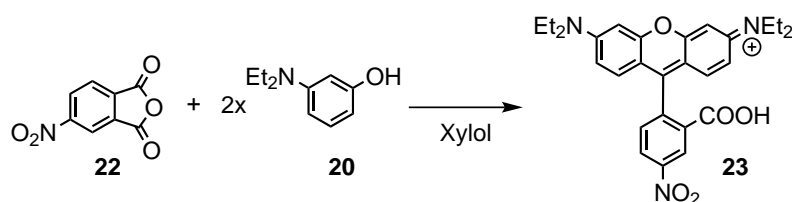
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
3-Diethylaminophenol	C ₁₀ H ₁₅ NO	165.24	1.0	4.84	0.8

3-Diethylaminophenol (0.8 g, 4.84 mmol) wurde zusammen mit 5 %-Pt/C (0.16 g) und D₂O (7 mL) in einem Reaktionskolben vorgelegt. Das Reaktionsgemisch wurde unter Wasserstoff-Atmosphäre 18 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde dieses mit Ethylacetat (30 mL) verdünnt und der Katalysator durch Filtration über Celite entfernt. Die erhaltene Lösung wurde mit Wasser (20 mL) gewaschen und das Ethylacetat unter reduziertem Druck abdestilliert. Auf diese Weise wurden 0.7 g (4.13 mmol, 85 %) an 3-Diethylaminophenol als eine braune, zähflüssige Substanz erhalten. Um die Effektivität der Deuterierung zu erhöhen, wurde dieser Zyklus drei weitere Male wiederholt.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
d ₄ -3-Diethylaminophenol	C ₁₀ H ₁₁ D ₄ NO	169.26	85	4.13	0.7

Die Effektivität der Deuterierung wurde mit Hilfe von ¹H-NMR unter Zusatz von Dioxan als Standard und ²H-NMR bestimmt.

Synthese von Nitro-Rhodamin B



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
4-Nitrophthalsäureanhydrid 22	C ₈ H ₃ NO ₅	193.11	1.0	11.87	2.3
3-Diethylaminophenol 20	C ₁₀ H ₁₅ NO	165.24	2.0	24.81	4.1

4-Nitrophthalsäureanhydrid (2.3 g, 11.87 mmol, 1.0 Äq) wurde in Xylol (50 mL) in einem Kolben mit Wasserabscheider vorgelegt und auf 140 °C erhitzt. Innerhalb von 30 min wurde das 3-Diethylaminophenol (4.1 g, 24.81 mmol, 2.0 Äq) gelöst in Xylol (25 mL) hinzuge tropft und anschließend 18 h bei 140 °C gerührt. Das dunkel violett gefärbte Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt. Unter reduziertem Druck wurde ein Teil des organischen Lösungsmittels abdestilliert, so dass ein geringer Volumenanteil (ca. 5 mL) im Kolben verblieb. Das organische Lösungsmittel wurde abdekantiert und der Feststoff mit kaltem Xylol (10 mL) gewaschen. Anschließend wurde der Feststoff in siedendem Chloroform gelöst, filtriert und abgekühlt. Die kalte Lösung wurde unter starkem Rühren in kaltes Hexan gegeben. Das ausgefallene Produkt wurde mit kaltem Hexan gewaschen und anschließend getrocknet. Nach der Säulenchromatographie wurden 1.05 g (2.15 mmol, 25 %) von **4** als violetter Feststoff erhalten.

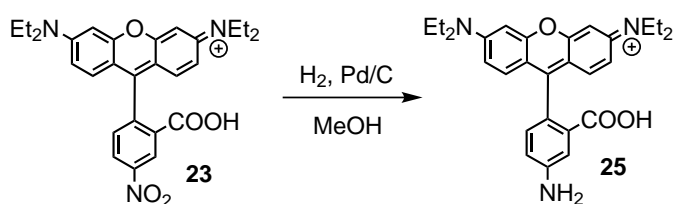
Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Nitro-Rhodamin B 23	C ₂₈ H ₃₀ N ₃ O ₅ ⁺	488.24	25	2.15	1.05

λ_{\max} = 533 nm

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 488.2 – gemessen 488.2 für C₂₈H₃₀N₃O₅⁺

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄): 1.29 (t, 12H, CH₃), 2.42 (q, 8H, CH₂), 6.39 (m, 1H, CH), 6.87 (m, 2H, CH), 7.59 (m, 1H, CH), 8.18 (m, 2H, CH), 8.4 (m, 2H, CH), 8.82 (m, 1H, CH)

Synthese von Amino-Rhodamin B



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Nitro-Rhodamin B 23	C ₂₈ H ₃₀ N ₃ O ₅ ⁺	488.24	1.0	0.51	0.25

Nitro-Rhodamin B **23** (0.25 g, 0.51 mmol) und 10 %-Pd/C (0.12 g) wurden in Methanol (30 mL) vorgelegt und 48 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde der Katalysator durch Filtration über Celite entfernt und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck abdestilliert. Nach einer Säulenchromatographischen-Aufreinigung wurden 0.036 g (0.079 mmol, 15 %) von **25** als rötlicher Feststoff erhalten.

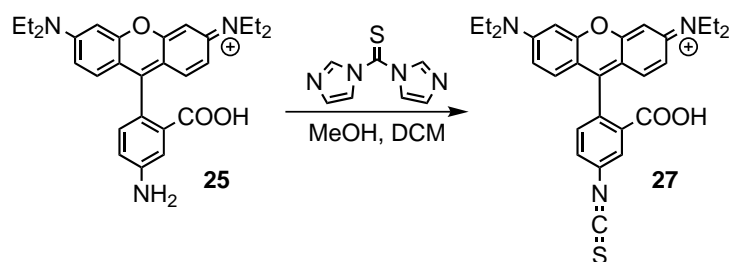
Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
Amino-Rhodamin B 25	C ₂₈ H ₃₂ N ₃ O ₃ ⁺	458.58	15	0.079	0.036

λ_{max} = 536 nm

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 458.2 – gemessen 458.2 für C₂₈H₃₂N₃O₃⁺

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄): 1.17 (t, 12H, CH₃), 3.4 (q, 8H, CH₂), 6.1 (m, 1H, CH), 6.98 (m, 2H, CH), 7.35 (m, 2H, CH), 7.42 (m, 2H, CH), 7.9 (m, 1H, CH), 8.1 (m, 1H, CH)

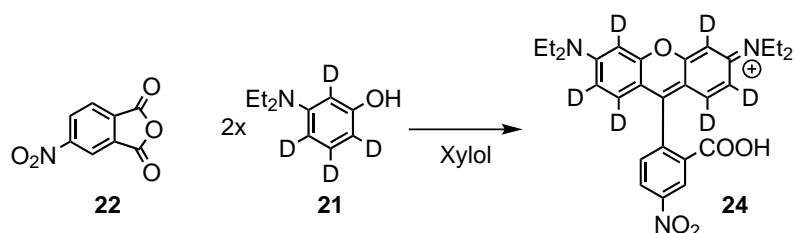
Synthese von Rhodamin B-Isothiocyanat



Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Amino-Rhodamin B 25	C ₂₈ H ₃₂ N ₃ O ₃ ⁺	458.58	1.0	0.185	0.085
1,1'-Thiocarbonyldiimidazol	C ₇ H ₆ N ₄ S	178.21	1.0	0.185	0.033

Amino-Rhodamin B **25** (0.085 g, 0.185 mmol) wurde zusammen mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol (0.033 g, 0.185 mmol) in einer Lösung aus Methanol (8 mL) und Dichlormethan (8 mL) vorgelegt und 18 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt. Es wurde ein magentaroter Feststoff erhalten. Als reines Produkt konnte das Rhodamin B-Isothiocyanat **27** jedoch nicht isoliert werden.

MS (pos. ESI) m/z = berechnet 500.2 – gemessen 500.2 für C₂₉H₃₀N₃O₅S⁺

Synthese von d₆-Nitro-Rhodamin B

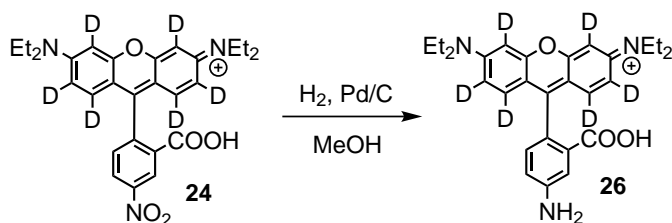
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
4-Nitrophthalsäureanhydrid 22	C ₈ H ₃ NO ₅	193.11	1.0	0.45	0.088
d ₄ -3-Diethylaminophneol 21	C ₁₀ H ₁₁ D ₄ NO	169.26	2.0	0.88	0.15

4-Nitrophthalsäureanhydrid **22** (0.088 g, 0.45 mmol, 1.0 Äq) wurde in Xylol (20 mL) in einem Kolben vorgelegt und auf 140 °C erhitzt. Innerhalb von 30 min wurde das d₄-3-Diethylaminophenol **21** (0.15 g, 0.88 mmol, 2.0 Äq) gelöst in Xylol (10 mL) hinzuge tropft und anschließend 18 h bei 140 °C erhitzt. Das dunkel violett gefärbte Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und unter reduziertem Druck ein Teil des organischen Lösungsmittels abdestilliert, so dass ein geringer Volumenanteil (ca. 5 mL) im Kolben zurück bleibt. Das organische Lösungsmittel wurde abdekantiert und der Feststoff mit kaltem Xylol (5 mL) gewaschen. Anschließend wurde der Feststoff in siedendem Chloroform gelöst, filtriert und abgekühlt. Die kalte Lösung wurde unter starkem Rühren in kaltes Hexan gegeben. Das ausgefallene Produkt wurde mit kaltem Hexan gewaschen und anschließend getrocknet. Es wurden 0.074 g (0.149 mmol, 32 %) von **24** als violetter Feststoff erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
d ₆ -Nitro-Rhodamin B 24	C ₂₈ H ₂₄ D ₆ N ₃ O ₅ ⁺	494.60	32	0.149	0.074

Zum qualitativen Nachweis der Deuteriumatome in dieser Verbindung wurde ein ²H-NMR-Spektrum aufgenommen.

$$\lambda_{\max}=548 \text{ nm}$$

Synthese von d₆-Amino-Rhodamin B

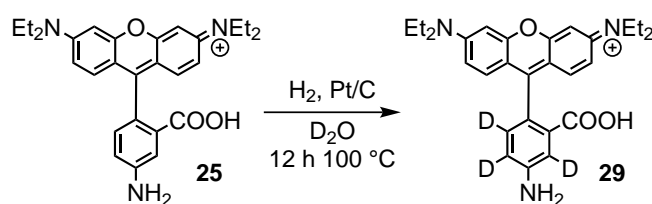
Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
d ₆ -Nitro-Rhodamin B 24	C ₂₈ H ₂₄ D ₆ N ₃ O ₅ ⁺	494.60	1.0	0.110	0.054

d₆-Nitro-Rhodamin B **24** (0.054 g, 0.110 mmol) und 10 %-Pd/C (0.12 g) wurden in Methanol (30 mL) vorgelegt und 48 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Der Katalysator wurde durch Filtration über Celite entfernt und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck abdestilliert. Nach einer Säulenchromatographischen-Aufreinigung wurden 0.010 g (0.022 mmol, 20 %) von **26** als roter Feststoff erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
d ₆ Amino-Rhodamin B 26	C ₂₈ H ₂₆ D ₆ N ₃ O ₃ ⁺	464.62	20	0.022	0.010

Zum qualitativen Nachweis der Deuteriumatome in dieser Verbindung wurde ein ²H-NMR-Spektrum aufgenommen.

λ_{max} =544 nm

Synthese von d₃Amino-Rhodamin B

Substanz	Formel	M [g·mol ⁻¹]	Äq.	n [mmol]	m [g]
Amino-Rhodamin B 25	C ₂₈ H ₃₂ N ₃ O ₃ ⁺	458.58	15	0.079	0.036

Amino-Rhodamin B **25** (0.036 g, 0.08 mmol) wurde zusammen mit 5 %-Pt/C (0.016 g) sowie D₂O (7 mL) in einem Reaktionskolben vorgelegt und unter Wasserstoff-Atmosphäre 18 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen des Reaktionsgemischs wurde dieses mit Methanol (30 mL) verdünnt und der Katalysator durch Filtration über Celite entfernt. Unter reduziertem Druck wurde Methanol und D₂O abdestilliert. Auf diese Weise wurden 0.033 g (0.070 mmol, 80 %) an d₃-Amino-Rhodamin **29** als eine rote Substanz erhalten.

Produkt	Formel	M [g·mol ⁻¹]	η [%]	n [mmol]	m [g]
d ₃ Amino-Rhodamin B 29	C ₂₈ H ₂₉ D ₃ N ₃ O ₃ ⁺	461.60	80	0.070	0.033

Zum qualitativen Nachweis der Deuteriumatome in dieser Verbindung wurde ein ²H-NMR-Spektrum aufgenommen.

$\lambda_{\text{max}} = 544 \text{ nm}$

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄): 1.29 (t, 12H, CH₃), 3.62 (q, 8H, CH₂), 6.95 (m, 3H, CH), 7.25 (m, 1H, CH)

7 Literaturverzeichnis

- [1] Daniel, M.-C.; Astruc, D. *Chemical Reviews* **2004**, *104*, 293-346.
- [2] West, J. L.; Halas, N. J. *Annual Review of Biomedical Engineering* **2003**, *5*, 285-292.
- [3] Grätzel, M. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2003**, *4*, 145-153.
- [4] Aragay, G.; Pino, F.; Merkoçi, A. *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 5317-5338.
- [5] Tian, B.; Zheng, X.; Kempa, T. J.; Fang, Y.; Yu, N.; Yu, G.; Huang, J.; Lieber, C. M. *Nature* **2007**, *449*, 885-889.
- [6] Faraday, M. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1857**, *147*, 145-181.
- [7] Brongersma, M. L. *Faraday Discussions* **2015**, *178*, 9-36.
- [8] Xia, Y.; Xiong, Y.; Lim, B.; Skrabalak, S. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 60-103.
- [9] Schlücker, S. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 4756-4795.
- [10] Ding, S.-Y.; Yi, J.; Li, J.-F.; Ren, B.; Wu, D.-Y.; Panneerselvam, R.; Tian, Z.-Q. *Nature Reviews Materials* **2016**, *1*, 16021.
- [11] McMahon, J. M.; Li, S.; Ausman, L. K.; Schatz, G. C. *The Journal of Physical Chemistry C* **2012**, *116*, 1627-1637.
- [12] Savage, K. J.; Hawkeye, M. M.; Esteban, R.; Borisov, A. G.; Aizpurua, J.; Baumberg, J. J. *Nature* **2012**, *491*, 574-577.
- [13] Zhu, W.; Crozier, K. B. *Nat Commun* **2014**, *5*,.
- [14] Salehi, M.; Steinigeweg, D.; Ströbel, P.; Marx, A.; Packeisen, J.; Schlücker, S. *Journal of Biophotonics* **2013**, *6*, 785-792.
- [15] Braun, G. B.; Lee, S. J.; Laurence, T.; Fera, N.; Fabris, L.; Bazan, G. C.; Moskovits, M.; Reich, N. O. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*, 13622-13629.
- [16] Simoncelli, S.; Roller, E.-M.; Urban, P.; Schreiber, R.; Turberfield, A. J.; Liedl, T.; Lohmüller, T. *ACS Nano* **2016**, *10*, 9809-9815.
- [17] Zrimsek, A. B.; Chiang, N.; Mattei, M.; Zaleski, S.; McAnally, M. O.; Chapman, C. T.; Henry, A.-I.; Schatz, G. C.; Van Duyne, R. P. *Chemical Reviews* **2017**, *117*, 7583-7613.
- [18] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G. *Annual Review of Physical Chemistry* **2012**, *63*, 65-87.
- [19] Cha, H.; Yoon, J. H.; Yoon, S. *ACS Nano* **2014**, *8*, 8554-8563.
- [20] Cha, H.; Lee, D.; Yoon, J. H.; Yoon, S. *J Colloid Interface Sci* **2016**, *464*, 18-24.
- [21] Popp, P. S.; Herrmann, J. F.; Fritz, E. C.; Ravoo, B. J.; Hoppener, C. *Small* **2016**, *12*, 1667-1675.

- [22] Kleemann, M.-E.; Mertens, J.; Zheng, X.; Cormier, S.; Turek, V.; Benz, F.; Chikkaraddy, R.; Deacon, W.; Lombardi, A.; Moshchalkov, V. V.; Vandenbosch, G. A. E.; Baumberg, J. J. *ACS Nano* **2017**, *11*, 850-855.
- [23] Henzie, J.; Andrews, S. C.; Ling, X. Y.; Li, Z.; Yang, P. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, 6640-6645.
- [24] Mie, G. *Annalen der Physik* **1908**, *330*, 377-445.
- [25] Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, *107*, 668-677.
- [26] Nordlander, P.; Oubre, C.; Prodan, E.; Li, K.; Stockman, M. I. *Nano Letters* **2004**, *4*, 899-903.
- [27] Halas, N. J.; Lal, S.; Chang, W.-S.; Link, S.; Nordlander, P. *Chemical Reviews* **2011**, *111*, 3913-3961.
- [28] Sheikholeslami, S.; Jun, Y.-w.; Jain, P. K.; Alivisatos, A. P. *Nano Letters* **2010**, *10*, 2655-2660.
- [29] Hill, R. T.; Mock, J. J.; Hucknall, A.; Wolter, S. D.; Jokerst, N. M.; Smith, D. R.; Chilkoti, A. *ACS Nano* **2012**, *6*, 9237-9246.
- [30] Nie, S.; Emory, S. R. *Science* **1997**, *275*, 1102-1106.
- [31] Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. *Physical Review Letters* **1997**, *78*, 1667-1670.
- [32] Zohar, N.; Chuntanov, L.; Haran, G. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2014**, *21*, 26-39.
- [33] Guarrotxena, N.; Ren, Y.; Mikhailovsky, A. *Langmuir* **2011**, *27*, 347-351.
- [34] Braun, G. B.; Lee, S. J.; Laurence, T.; Fera, N.; Fabris, L.; Bazan, G. C.; Moskovits, M.; Reich, N. O. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*, 13622-13629.
- [35] Banik, M.; El-Khoury, P. Z.; Nag, A.; Rodriguez-Perez, A.; Guarrotxena, N.; Bazan, G. C.; Apkarian, V. A. *ACS Nano* **2012**, *6*, 10343-10354.
- [36] Jiang, N.; Ruan, Q.; Qin, F.; Wang, J.; Lin, H. Q. *Nanoscale* **2015**, *7*, 12516-26.
- [37] Yu, X.; Lei, D. Y.; Amin, F.; Hartmann, R.; Acuna, G. P.; Guerrero-Martínez, A.; Maier, S. A.; Tinnefeld, P.; Carregal-Romero, S.; Parak, W. J. *Nano Today* **2013**, *8*, 480-493.
- [38] Lerch, S.; Reinhard, B. M. *Adv Mater* **2016**, *28*, 2030-6.
- [39] Pastorelli, F.; Bidault, S.; Martorell, J.; Bonod, N. *Advanced Optical Materials* **2014**, *2*, 171-175.
- [40] Bidault, S.; Devilez, A.; Maillard, V.; Lermusiaux, L.; Guigner, J.-M.; Bonod, N.; Wenger, J. *ACS Nano* **2016**, *10*, 4806-4815.

- [41] Lim, D.-K.; Jeon, K.-S.; Kim, H. M.; Nam, J.-M.; Suh, Y. D. *Nat Mater* **2010**, *9*, 60-67.
- [42] Zohar, N.; Haran, G. *Langmuir* **2014**, *30*, 7919-7927.
- [43] Thacker, V. V.; Herrmann, L. O.; Sigle, D. O.; Zhang, T.; Liedl, T.; Baumberg, J. J.; Keyser, U. F. *Nat Commun* **2014**, *5*, 3448.
- [44] Prinz, J.; Matković, A.; Pešić, J.; Gajić, R.; Bald, I. *Small* **2016**, *12*, 5458-5467.
- [45] Acuna, G. P.; Möller, F. M.; Holzmeister, P.; Beater, S.; Lalkens, B.; Tinnefeld, P. *Science* **2012**, *338*, 506-510.
- [46] Schopf, C.; Noonan, E.; Quinn, A.; Iacopino, D. *Crystals* **2016**, *6*, 117.
- [47] Steinigeweg, D.; Schütz, M.; Salehi, M.; Schlücker, S. *Small* **2011**, *7*, 2443-2448.
- [48] Chen, G.; Wang, Y.; Tan, L. H.; Yang, M.; Tan, L. S.; Chen, Y.; Chen, H. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 4218-4219.
- [49] Liu, Y.; Sun, Y. *Nanoscale* **2015**, *7*, 13687-13693.
- [50] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. *Chemical Reviews* **2005**, *105*, 1103-1170.
- [51] Liang, J.; Rosa, L. G.; Scoles, G. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 17275-17284.
- [52] Yoon, J. H.; Lim, J.; Yoon, S. *ACS Nano* **2012**, *6*, 7199-7208.
- [53] Yoon, J. H.; Yoon, S. *Langmuir* **2013**, *29*, 14772-14778.
- [54] Marinica, D. C.; Kazansky, A. K.; Nordlander, P.; Aizpurua, J.; Borisov, A. G. *Nano Lett* **2012**, *12*, 1333-1339.
- [55] Mappes, T.; Jahr, N.; Csaki, A.; Vogler, N.; Popp, J.; Fritzsche, W. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 11208-11212.
- [56] Yang, L.; Wang, H.; Fang, Y.; Li, Z. *ACS Nano* **2016**, *10*, 1580-1588.
- [57] Lee, Y.-J.; Schade, N. B.; Sun, L.; Fan, J. A.; Bae, D. R.; Mariscal, M. M.; Lee, G.; Capasso, F.; Sacanna, S.; Manoharan, V. N.; Yi, G.-R. *ACS Nano* **2013**, *7*, 11064-11070.
- [58] Liz-Marzán, L. M. *Langmuir* **2006**, *22*, 32-41.
- [59] Willets, K. A.; Van Duyne, R. P. *Annual Review of Physical Chemistry* **2007**, *58*, 267-297.
- [60] Lin, H.-X.; Li, J.-M.; Liu, B.-J.; Liu, D.-Y.; Liu, J.; Terfort, A.; Xie, Z.-X.; Tian, Z.-Q.; Ren, B. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15*, 4130-4135.
- [61] Raman, C. V.; Krishnan, K. S. *Nature* **1928**, *121*, 501-502.
- [62] Long, D. A. Quantum Mechanical Theory of Rayleigh and Raman Scattering. In *The Raman Effect*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2002.

- [63] Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J. *Chemical Physics Letters* **1974**, *26*, 163-166.
- [64] Jeanmaire, D. L.; Van Duyne, R. P. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1977**, *84*, 1-20.
- [65] Moskovits, M. *Reviews of Modern Physics* **1985**, *57*, 783-826.
- [66] Zhang, Y.; Walkenfort, B.; Yoon, J. H.; Schlucker, S.; Xie, W. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 21120-21126.
- [67] Indrasekara, A. S. D. S.; Paladini, B. J.; Naczynski, D. J.; Starovoytov, V.; Moghe, P. V.; Fabris, L. *Advanced Healthcare Materials* **2013**, *2*, 1370-1376.
- [68] Vlčková, B.; Moskovits, M.; Pavel, I.; Šišková, K.; Sládková, M.; Šlouf, M. *Chemical Physics Letters* **2008**, *455*, 131-134.
- [69] Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. *Discussions of the Faraday Society* **1951**, *11*, 55-75.
- [70] Steinigeweg, D.; Schlucker, S. *Chemical Communications* **2012**, *48*, 8682-8684.
- [71] Bastús, N. G.; Comenge, J.; Puentes, V. *Langmuir* **2011**, *27*, 11098-11105.
- [72] Le Ru, E. C.; Meyer, M.; Etchegoin, P. G. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 1944-1948.
- [73] Dieringer, J. A.; Lettan, R. B.; Scheidt, K. A.; Van Duyne, R. P. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 16249-16256.
- [74] Dacarro, G.; Ricci, P.; Sacchi, D.; Taglietti, A. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2011**, *2011*, 1212-1218.
- [75] Zhuo, R. X.; Du, B.; Lu, Z. R. *Journal of Controlled Release* **1999**, *57*, 249-257.
- [76] Nguyen, T.; Francis, M. B. *Organic Letters* **2003**, *5*, 3245-3248.
- [77] Ochiai, M. *Journal of Organometallic Chemistry* **2000**, *611*, 494-508.
- [78] Shinkai, I.; Liu, T.; Reamer, R.; Slettinger, M. *Synthesis* **1980**, *1980*, 924-926.
- [79] Kay, G.; Cairns, D.; McCaughan, B.; Warasiha, B. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2007**, *59*, A7-A8.
- [80] Isidro-Llobet, A.; Álvarez, M.; Albericio, F. *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 2455-2504.
- [81] Kell, A. J.; Barnes, M. L.; Jakubek, Z. J.; Simard, B. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 18412-18421.
- [82] Mutsumi, T.; Iwata, H.; Maruhashi, K.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 1158-1165.
- [83] Janni, M.; Peruncheralathan, S. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2016**, *14*, 3091-3097.

- [84] Yang, J. Chapter 3 - Deuterium-Labeled Compounds. In *Deuterium*; Elsevier: Amsterdam Oxford Cambridge, 2016.
- [85] Sawama, Y.; Yamada, T.; Yabe, Y.; Morita, K.; Shibata, K.; Shigetsura, M.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2013**, *355*, 1529-1534.
- [86] Hamoudi, H.; Esaulov, V. A. *Annalen der Physik* **2016**, *528*, 242-263.
- [87] Reddy, P.; Jang, S.-Y.; Segalman, R. A.; Majumdar, A. *Science* **2007**, *315*, 1568-1571.
- [88] Reed, M. A.; Zhou, C.; Muller, C. J.; Burgin, T. P.; Tour, J. M. *Science* **1997**, *278*, 252-254.
- [89] Cui, L.; Liu, B.; Vonlanthen, D.; Mayor, M.; Fu, Y.; Li, J.-F.; Wandlowski, T. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 7332-7335.
- [90] Bruot, C.; Hihath, J.; Tao, N. *Nat Nano* **2012**, *7*, 35-40.
- [91] Osberg, K. D.; Rycenga, M.; Harris, N.; Schmucker, A. L.; Langille, M. R.; Schatz, G. C.; Mirkin, C. A. *Nano Letters* **2012**, *12*, 3828-3832.
- [92] Gadogbe, M.; Chen, M.; Zhao, X.; Saebo, S.; Beard, D. J.; Zhang, D. *The Journal of Physical Chemistry C* **2015**, *119*, 6626-6633.
- [93] Valkenier, H.; Huisman, E. H.; van Hal, P. A.; de Leeuw, D. M.; Chiechi, R. C.; Hummelen, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 4930-4939.
- [94] Langille, M. R.; Personick, M. L.; Zhang, J.; Mirkin, C. A. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 14542-14554.
- [95] Modern Plasmonics. In *Handbook of Surface Science*, Vol. Volume 4; Richardson, N. V.; Stephen, H., Eds.; North-Holland: Amsterdam Oxford Waltham, 2014.
- [96] Ruan, Q.; Shao, L.; Shu, Y.; Wang, J.; Wu, H. *Advanced Optical Materials* **2014**, *2*, 65-73.
- [97] Gao, C.; Vuong, J.; Zhang, Q.; Liu, Y.; Yin, Y. *Nanoscale* **2012**, *4*, 2875-2878.
- [98] O'Brien, M. N.; Jones, M. R.; Kohlstedt, K. L.; Schatz, G. C.; Mirkin, C. A. *Nano Lett* **2015**, *15*, 1012-1017.
- [99] Lin, G.; Chee, S. W.; Raj, S.; Král, P.; Mirsaidov, U. *ACS Nano* **2016**, *10*, 7443-7450.
- [100] Jiang, N.; Shao, L.; Wang, J. *Advanced Materials* **2014**, *26*, 3282-3289.
- [101] Shao, L.; Ruan, Q.; Jiang, R.; Wang, J. *Small* **2014**, *10*, 802-811.
- [102] Indrasekara, A. S. D. S.; Wadams, R. C.; Fabris, L. *Particle & Particle Systems Characterization* **2014**, *31*, 819-838.
- [103] Hayes, P. L.; Keeley, A. R.; Geiger, F. M. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 4495-4502.
- [104] Dai, Q.; Coutts, J.; Zou, J.; Huo, Q. *Chemical Communications* **2008**, 2858-2860.

- [105] Liu, K.; Zheng, Y.; Lu, X.; Thai, T.; Lee, N. A.; Bach, U.; Gooding, J. J. *Langmuir* **2015**, *31*, 4973-4980.
- [106] Jalali, F.; Gerandaneh, A. *Journal of Dispersion Science and Technology* **2011**, *32*, 659-666.
- [107] Ferhan, A. R.; Guo, L.; Kim, D. H. *Langmuir* **2010**, *26*, 12433-12442.
- [108] Mehtala, J. G.; Zemlyanov, D. Y.; Max, J. P.; Kadasala, N.; Zhao, S.; Wei, A. *Langmuir* **2014**, *30*, 13727-13730.
- [109] Leonov, A. P.; Zheng, J.; Clogston, J. D.; Stern, S. T.; Patri, A. K.; Wei, A. *ACS Nano* **2008**, *2*, 2481-2488.
- [110] Yang, L.; Wang, H.; Yan, B.; Reinhard, B. M. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, 4901-4908.
- [111] Holze, R. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 21364-21372.
- [112] Kubackova, J.; Izquierdo-Lorenzo, I.; Jancura, D.; Miskovsky, P.; Sanchez-Cortes, S. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2014**, *16*, 11461-11470.
- [113] Yoon, J. H.; Park, J. S.; Yoon, S. *Langmuir* **2009**, *25*, 12475-12480.

8 Anhang

NMR-Spektren zur Bestimmung des Deuteriumanteils nach dem H-D-Austausch

Die Effektivität der Deuterierung nach dem H-D-Austausch erfolgte mittels der ^1H - und ^2H -NMR-Spektroskopie. Zur Quantifizierung des Deuterierungsgrades des 3-Diethylaminophenols wurde Dioxan als interner Standard, mit der jeweils gleichen Stoffmenge, bei der ^1H -NMR-Messung der Probe, hinzugegeben. Dioxan zeigt ein Singulett mit acht Protonen bei 3.72 ppm.

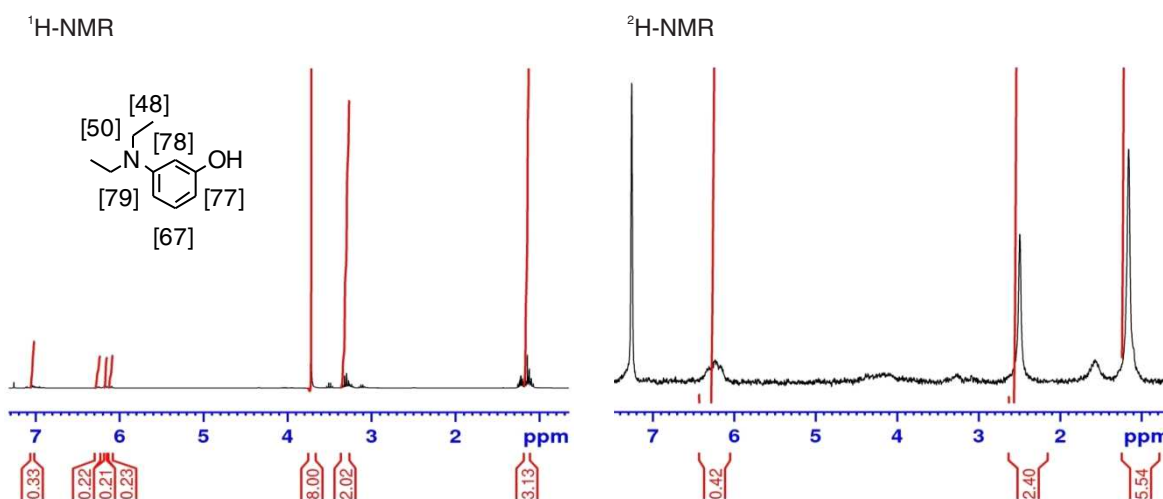


Abb. 77: ^1H -NMR und ^2H -NMR des deuterierten 3-Diethylaminophenols. Der für die Deuterierung benötigte Wasserstoff wurde *in situ* erzeugt.

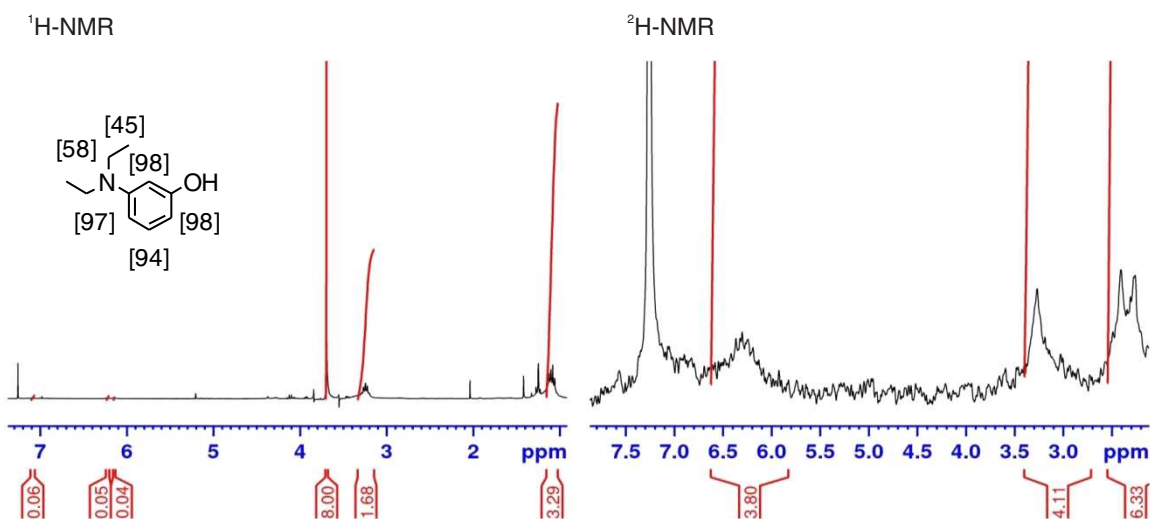


Abb. 78: ^1H -NMR und ^2H -NMR des deuterierten 3-Diethylaminophenols. Die Deuterierung wurde unter Wasserstoffatmosphäre durchgeführt.

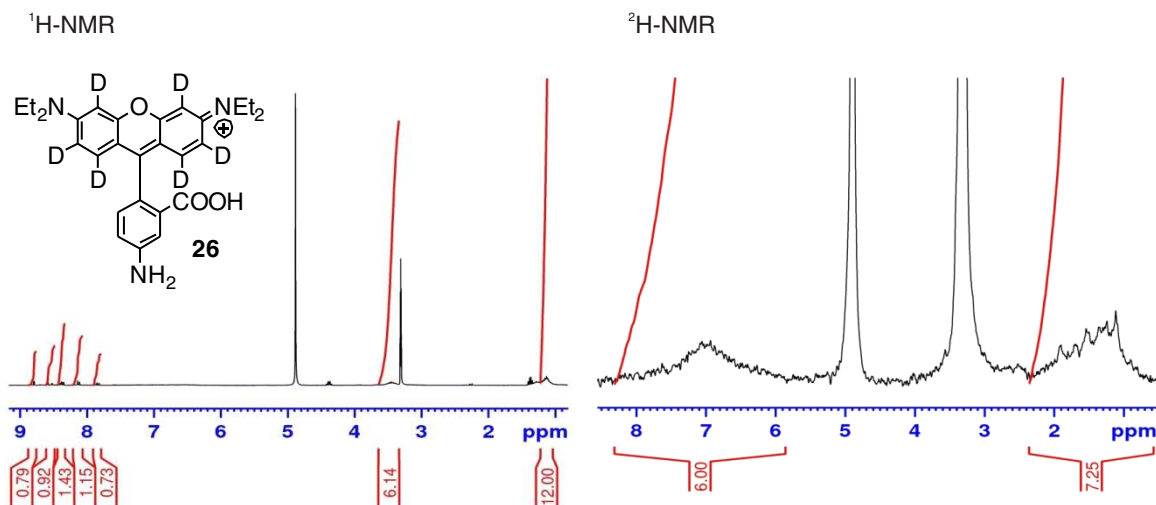


Abb. 79: ¹H-NMR und ²H-NMR des d₆-Amino-Rhodamin B **26**. Die Signale bei 3.3 ppm und 4.8 ppm werden dem d₄-Methanol, welches als Referenz verwendet wurde, zugeordnet.

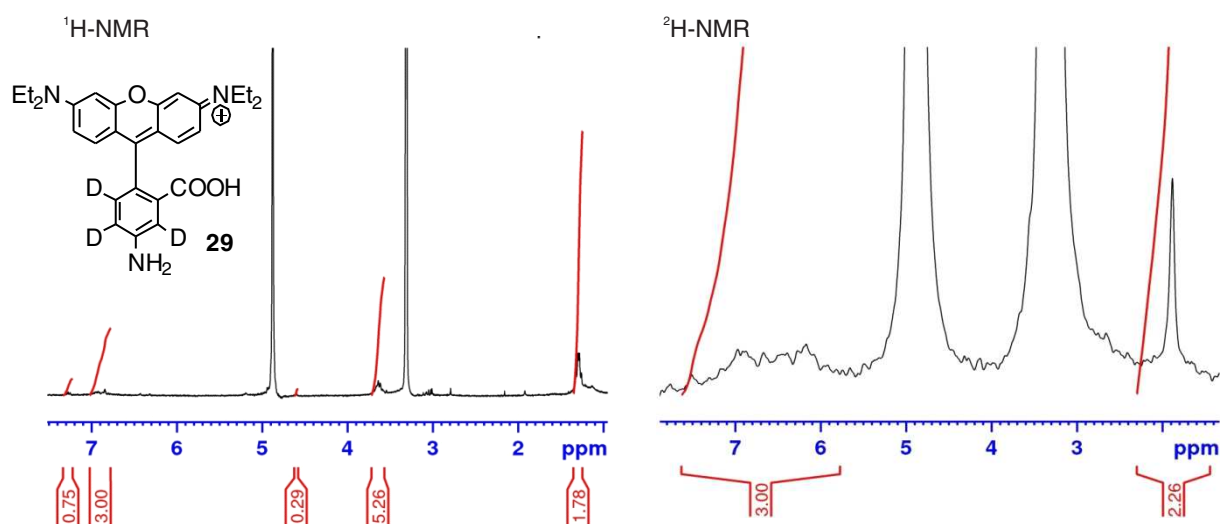


Abb. 80: ¹H-NMR und ²H-NMR des d₃-Amino-Rhodamin B **29**. Die Signale bei 3.3 ppm und 4.8 ppm werden dem d₄-Methanol, welches als Referenz verwendet wurde, zugeordnet.

8.1 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Sebastian Schlücker für die Möglichkeit, meine Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen, das Vertrauen in mich und die vielen hilfreichen Ideen und Diskussionen.

Bei Herrn Jun.-Prof. André H. Gröschel möchte ich mich herzlich für die Übernahme des Korreferat bedanken.

Für die vielen technischen Hilfestellungen an den Mikroskopieaufbauten, bei der Elektronenmikroskopie, sowie bei allen weiteren Problemen, die aufgetreten sind, gilt ein großer Dank Herrn Bernd Walkenfort.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Axel Hoffmann, Herrn Dr. Jörg Wissler und Herrn Jan Neumann für die administrative, technische und sonstige Unterstützung.

Dr. Jun Hee Yoon danke ich für die vielen hilfreichen Diskussionen, Anregungen, Tipps und die nette Zusammenarbeit. Besonders möchte ich mich bei Svetlana Brem bedanken, für die vielen Gespräche, Diskussionen und die schöne Zeit in der Arbeitsgruppe.

Ein großer Dank gilt auch meinen Vertiefungs-, Bachelor- und Masterstudenten Thomas Mercier, Shiyue Wang, Ludmilla Langolf und Thomas Keller, deren Abschlussarbeiten ich betreuen durfte und die zum Teil danach zu Kollegen wurden.

Von der Arbeitsgruppe Mayer möchte ich Manfred Zähres für die ^2H -NMR-Messungen und Kirsten Schwark für die schnelle Hilfe bei Materialengpässen danken.

Bei Matthias König, Ludmilla Langolf und Vi Tran bedanke ich mich für die Durchsicht meiner Arbeit und die zahlreichen Anregungen.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen jetzigen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Schlücker. Es war eine tolle Zeit und es hat viel Spaß gemacht, die Gruppe mit aufzubauen.

Außerdem gilt mein besonderer Dank Benjamin Wolbert für die Unterstützung in der Ausbildung, im Studium sowie für die gute Freundschaft.

Vielen Dank all denen, die hier nicht namentlich erwähnt sind und mich über meine Zeit im Studium und in der Promotion begleitet haben.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinen Eltern und meinem Bruder für die Unterstützung und Motivation während meiner Studienzeit und Promotion. Mein größter Dank gilt Francis. Für die richtigen Worte zum richtigen Zeitpunkt, für die Unterstützung und dass du für mich da bist.

8.2 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

